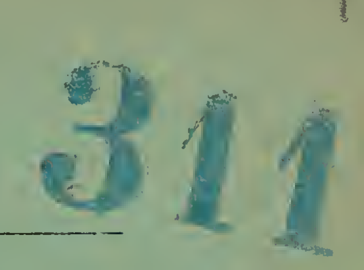


UNIVERSITÉ DE PARIS — FACULTÉ DE MÉDECINE

Année 1906 — N° —

DES NÉOPLASIES EXPÉRIMENTALES

PRODUITES PAR L'INOCULATION DU MICROCOCCUS NEOFORMANS

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le Jeudi 14 Juin 1906 à 1 heure

PAR

E. GOBERT

Président . . . . M. CORNIL, *professeur.*

Juges. . . . . . . MM. LE DENTU, *professeur.* BEZANÇON, *agrégé.* MORESTIN, *agrégé.*

Le candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties de l'enseignement médical.

PARIS
G. JACQUES, ÉDITEUR
14, RUE HAUTEFEUILLE, 14

1906

DES

NÉOPLASIES EXPÉRIMENTALES

PRODUITES PAR L'INOCULATION

DU MICROCOCCUS NEOFORMANS

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

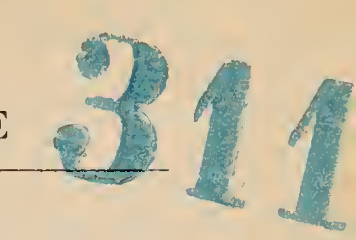
Doyen	M. DEBOVE
Professeurs	MM
Anatomie	POIRIER
Physiologie	CH. RICHET
Physique médicale	GARIEL
Chimie organique et chimie minérale	A. GAUTIER
Histoire naturelle médicale	BLANCHARD
Pathologie et thérapeutique générales	BOUCHARD
Pathologie médicale	HUTINEL BRISSAUD
Pathologie chirurgicale	LANNELONGUE
Anatomie pathologique	CORNIL
Histologie	MATHIAS DUVAL
Opérations et appareils	SEGOND
Pharmacologie et matière médicale	G. POUCHET
Thérapeutique	GILBERT
Hygiène	CHANTEMESSE
Médecine légale	BROUARDEL
Histoire de la médecine et de la chirurgie	DEJERINE
Pathologie comparée et expérimentale	ROGER
Clinique médicale	DEBOVE LANDOUZY HAYEM DIEULAFOY
Clinique des maladies des enfants	GRANCHER
Clinique des maladies syphilitiques	GAUCHER
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale	JOFFROY
Clinique des maladies du système nerveux	RAYMOND
Clinique chirurgicale	LE DENTU TERRIER BERGER RECLUS
Clinique ophthalmologique	DE LAPERSONNE
Clinique des maladies des voies urinaires	GUYON
Clinique d'accouchements	PINARD BUDIN
Clinique gynécologique	POZZI
Clinique chirurgicale infantile	KIRMISSON
Clinique thérapeutique	ALBERT ROBIN

Agrégés en exercice

MM.	MM	MM	MM
AUVRAY	DESGREZ	LAUNOIS	POTOCKI
BALTHAZARD	DUPRÉ	LEGRY	PROUST
BEZANÇON	DUVAL	LEGUEU	RENON
BRANCA	FAURE	LEPAGE	RICHAUD
BRINDEAU	GOSSET	MACAIGNE	RIEFFEL, chef des trav. anat.
BROCA ANDRÉ	GOUGET	MAILLARD	TEISSIER
CARNOT	GUIART	MARION	THIROLOIX
CLAUDE	JEANSELME	MAUCLAIRE	VAQUEZ
CUNEO	LABBÉ	MERY	WALLICH
DEMELIN	LANGLOIS	MORESTIN	

Chef des travaux anatomiques : M. RIEFFEL, agrégé

UNIVERSITÉ DE PARIS — FACULTÉ DE MÉDECINE



Année 1906 N°

DES
NÉOPLASIES EXPÉRIMENTALES
PRODUITES PAR L'INOCULATION
DU MICROCOCCUS NEOFORMANS

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le Jeudi 14 Juin 1906 à 1 heure

PAR

E. GOBERT

Président . . . . M. CORNIL, *professeur.*

Juges. . . . . . . MM. LE DENTU, *professeur.*
BEZANÇON, *agrégé.*
MORESTIN, *agrégé.*

Le candidat répondra aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties de l'enseignement médical.

PARIS
G JACQUES, ÉDITEUR
14, RUE HAUTEFEUILLE, 14

1906

MEIS ET AMICIS

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR CORNIL

A MES MAITRES

Nous devons rendre hommage à la bienveillance de M. le Dr Doyen qui nous a permis depuis deux ans de suivre ses expériences et qui a mis ses notes de laboratoire à notre disposition.

INTRODUCTION

La découverte du micrococcus neoformans a beaucoup étonné les expérimentateurs qui avaient depuis longtemps tenté sans succès la culture des tumeurs sur les milieux les plus divers. Ce nouveau microbe se trouve chez l'homme dans un grand nombre de néoplasmes bénins, dans la zône active de tous les cancers (sarcomes ou épithéliomes), dans les ganglions et toutes les métastases cancéreuses. Nous l'avons rencontré également dans cinq cas de tumeurs spontanées à évolution rapide chez le chien dans un cas d'épithélioma spontané du rein chez le rat blanc et dans un cas de cancer mammaire spontané chez la souris blanche. C'est un parasite intra-cellulaire et il semble qu'il faille lui attribuer la prolifération si extraordinaire et les formes monstrueuses des cellules dont l'accumulation forme les cancers. En effet, il est incontestable aujourd'hui que ce microbe n'est pas un parasite accidentel des néoplasmes, un vulgaire saprophyte.

Nous allons tâcher de déterminer quel est son rôle exact dans la formation des néoplasmes. A-t-il un rôle primordial ou seulement secondaire dans la production des tissus cancéreux, mérite-t-il le nom de microbe du cancer ? Il parait impossible, dans l'état actuel de nos connaissances, de donner à chacune de ces questions une réponse catégorique. Nous envisagerons d'abord le problème au point de vue théorique.

Les pathologistes sont aujourd'hui d'accord pour ranger sous le nom de cancer des lésions caractérisées par une prolifération

anormale des cellules et par leur extension soit de proche en proche, soit à distance, sous forme de métastases. La classification histologique des tumeurs est basée à la fois sur le type anatomique des cellules intéressées et sur le mode de groupement de ces cellules. De là des variétés infinies, puisqu'un des caractères de la prolifération cellulaire du cancer est la production de formes monstrueuses s'éloignant beaucoup du type des cellules normales qui en ont été le point de départ On a multiplié les variétés de tumeurs. Il a cependant fallu se rendre à l'évidence et constater que des typesde tumeurs considérés jusqu'alors comme irréductibles, pouvaient s'associer dans le même néoplasme à d'autres variétés bien distinctes ; par exemple : la réunion dans une même tumeur du type sarcome et du type épithéliome. On reconnut également, que contrairement à la doctrine initiale, les métastases n'étaient pas toujours identiques au type histologique de la tumeur primitive. On fut obligé de créer la classe, ouverte à toutes les exceptions, des tumeurs mixtes, où l'on rencontre simultanément les néoformations pathologiques les plus variées.

Une récente expérience d'Ehrlich et Apolant (1) a même démontré la possibilité de la transformation d'un épithéliome bien caractérisé en sarcome après plusieurs passages chez la souris blanche. Nous devons à l'obligeance de M. Borrel d'avoir pu examiner des coupes de ces deux tumeurs, l'épithéliome initial et le sarcome secondaire.

Il s'agit dans la série de néoplasmes sur lesquels ont porté les expériences d'Ehrlich et Apolant de la tumeur n° 16. Nous citons l'analyse que M. Besredka a fait de leur travail dans le *Bulletin de l'Institut Pasteur* 1905, p. 739 :

« Cette tumeur qui était un adénocarcinome avec kystes, fut réinoculée, comme beaucoup d'autres, à une série de souris successives ; les tumeurs de nouvelles générations examinées à plusieurs reprises avaient tous les caractères propres aux carcinomes réinoculés.

1. P. Ehrlich et H. Apolant. « *Beobachtungen über maligne Mäusertumoren* » Berlin. Klin. Woch., 10 juillet 1905, pp. 871-874.

« Or, en examinant les tumeurs de la dixième génération, les auteurs ne furent pas peu surpris de constater qu'ils avaient obtenu une tumeur mixte ; au cours des générations ultérieures, l'élément carcinomateux était de moins en moins représenté, à tel point que dans les tumeurs de la quatorzième génération, il n'y eut plus trace de carcinome : on était en présence d'un sarcome typique, lequel sarcome a continué à s'inoculer de souris à souris avec un rendement remarquable de 90 0/0.

« Macroscopiquement, ce sarcome se distinguait légèrement du carcinome par sa consistance un peu plus ferme et par ses limites un peu plus précises par rapport aux tissus voisins. Son énergie de croissance était telle qu'il ne fallut pas plus de quatorze jours pour atteindre les dimensions d'une cerise. Par sa tendance à la dégénérescence et à l'ulcération de la peau, ce sarcome ne différait pas beaucoup du carcinome ».

Tout récemment Ehrlich et Apolant (1) ont décrit trois nouveaux cas de semblables transformations de carcinome de la souris en sarcome par greffes successives.

Dans le cas n° 2, il s'agit d'un mélange de quatre races de carcinome. Apolant y joint l'observation d'un adénome récidivant de la thyroïde chez l'homme. La tumeur primitive était purement épithéliale. La récidive était une tumeur mixte, les métastases, du sarcome à cellules fusiformes, sans participation de carcinome.

Ce mémoire est complété par les expériences d'Haaland qui a chauffé à 44° centigrades, pendant 5, 10, 15,.... 65 minutes, des fragments d'une tumeur mixte avant son inoculation.

Ce traitement a retardé l'apparition de la tumeur fille, proportionnellement à la durée du chauffage, en même temps qu'il diminuait la vitalité et le nombre des cellules épithéliales. Les greffes chauffées pendant 65 minutes ont donné du sarcome absolument pur.

1. Apolant, Ehrlich et Haaland (Francfort). « Experimentelle beiträge zur geschwulstlehre » Contributions à l'étude expérimentale des tumeurs). *Berlin. klin. woch.*, 1906, n° 2, 4 fig.

Le chauffage à 44° détruit donc les cellules épithéliales et respecte le stroma conjonctif ainsi que l'élément qui lui confère son pouvoir de multiplication indéfinie.

Dagonet et Mauclaire (1) avaient déjà publié un cas de tumeur expérimentale obtenu chez le rat blanc après inoculation d'un fragment de cancer du rectum.

L'examen histologique du néoplasme de l'animal ne reproduisait pas l'aspect d'épithélioma cylindrique tubulé que l'on avait reconnu chez l'homme ; il rentrait plutôt dans la classe des sarcomes (2).

Ces faits prouvent nettement que l'épithélioma ou le sarcome pourraient bien n'être que des variétés histologiques d'une seule et même affection, le cancer. On nous objectera que nous revenons à la diathèse cancéreuse ; assurément, si le mot diathèse est ici synonyme d'infection microbienne. Il est bien démontré aujourd'hui que dans les tumeurs épithéliales il y a production simultanée de tissu épithélial et de tissu conjonctif, et même dans certaines métastases, le tissu sarcomateux prend le dessus sur le tissu épithélial.

Il y a des cas où le tissu conjonctif ne se borne pas à accompagner et à soutenir l'élément épithélial, mais le précède même : M. Cornil a observé, dans un cas de squirrhe, l'envahissement des ganglions par des travées fibreuses, avant l'apparition de toute cellule épithéliale. Si l'on suppose un élément infectieux, il faut donc admettre que cet agent soit capable de provoquer aussi bien la prolifération des épithéliums que du tissu conjonctif. Voici quelques exemples : Dans une tumeur primitive, un cancer de la langue, il s'agissait d'un épithélioma pavimenteux

1. Dagonet et Mauclaire. « Essais de transmissibilité de l'epithélioma humain en série chez le rat ». *Arch. méd. expér.* t. XVI, septembre 1904, p. 552, 1 pl.

2. En se servant d'une technique qui lui permet de suivre pas à pas le sort des cellules greffées, Barashford a pu constater que les cellules conjonctives sont détruites et remplacées par des éléments empruntés à l'hôte. On serait donc en droit de considérer les expériences de transformation de carcinomes en sarcomes comme de vraies inoculations. — F. F. Barashford (Londres). « Einige Bemerkungen zur Methodik der experimentellen Krebsforschung ». *Berlin. Klin. Woch.*, 16 avril 1906 ; pp. 477-478.

stratifié à globes épidermiques ; un ganglion sous-maxillaire se montra formé presque exclusivement d'un tissu sarcomateux à cellules fusiformes, étouffant d'étroits boyaux d'épithélioma tubulé, sans trace de globes épidermiques. Dans un autre cas (1), on peut observer dans une métastase d'un cancer de la langue dans la glande sous-maxillaire, la juxtaposition des lésions de l'épithélioma à globes épidermiques, venant de la langue, et de l'épithélioma cylindrique développé sur place aux dépens des acini de la glande sous-maxillaire parasitée par voisinage. L'agent irritant a provoqué à la fois la multiplication des épithéliums pavimenteux, des épithéliums glandulaires, et du tissu conjonctif. Il est donc tout à fait logique de penser que le même agent infectieux, se trouvant au milieu d'un tissu exclusivement mésodermique, produira des tumeurs exclusivement conjonctives, de même qu'au contact de tissus spéciaux, il produira les tumeurs les plus variées et les plus rares : endothéliomes de la pie-mère, tumeurs primitives et difficiles à classer de la rate, du rein, du foie, de la capsule surrénale, etc.

Il est logique de rattacher les tumeurs bénignes à la même étiologie que les cancers dont elles ne sont bien souvent qu'un premier stade : transformation des papillomes en épithéliomes, des adénomes en carcinomes, etc.

Il est d'ailleurs démontré que certaines tumeurs ordinairement bénignes, se trouvent à la limite de la malignité. Certains lipomes, quand ils ne sont pas extirpés assez largement, récidivent aussi vite que des cancers et peuvent atteindre des dimensions prodigieuses. Les myomes utérins ne cessent de s'accroître, dans certains cas, qu'à la mort de la malade ; il semble qu'ils portent en eux le pouvoir de se développer indéfiniment et il ne faut pas oublier qu'il a été publié plusieurs observations de métastases de fibromyomes utérins de type histologique pur, particulièrement dans les poumons (2). L'attention du Docteur Doyen avait été

1. Doyen. *Société Anatomique.* Séance du 17 mars 1905.

2. Klebs. « Leiomyom des uterus mit metastatischen Geschwulsten ». *Allgem. Pathologie* 1889. — Krische (Georg.). « Ein Fall von Fibromyom des uterus mit

attirée sur ces faits par le Professeur Pick, de Berlin. D'autre part, il existe des tumeurs de type histologique bien défini, comme le myxome, l'enchondrome, qui affectent une évolution, tantôt bénigne, tantôt maligne, sans qu'il soit possible d'en éclaircir le motif. Le sarcome à myéloplaxes est souvent très malin : il a cependant été publié des observations de guérison après un simple curettage. Histologiquement, les végétations épithéliales des tumeurs végétantes de l'ovaire ne diffèrent guère dans les cas où l'affection présente un caractère bénin et dans les cas où elle évolue comme un cancer. Il faut donc bien admettre que ces tumeurs, lorsqu'elles restent bénignes, sont simplement le siège d'une irritation néoformatrice atténuée (1).

Si nous voulons interpréter ces faits, nous aboutissons toujours à la notion d'un agent infectieux, dont la virulence peut varier sensiblement d'un cas à l'autre. Nous avons naturellement à tenir compte d'un autre facteur, la résistance de l'organisme humain dans sa lutte contre l'agent infectieux.

Il est donc rationnel aujourd'hui et conforme aux dernières conquêtes de la pathologie générale de faire rentrer les néoplasmes dans la classe des maladies infectieuses.

Tout agent pathogène de nature parasitaire peut agir soit par infection directe, soit par voie embolique.

Si nous appliquons cette classification étiologique aux tumeurs, tous les néoplasmes de la peau, des muqueuses et des glandes accessoires rentrent dans la première catégorie, tandis que les tumeurs d'origine mésodermique, les tumeurs de la glande

multiplen Metastasen bei einer Geisteskranken ». *Inaug. Dissert.* Gottingen 1889. — SCHLAGENHAUFER (F.). « Myoma teleangiectodes uteri mit reinen Myommetastasen in der Leber und Lungen ». *Wien. klin. Wochenschr.*, 1902, n° 20, 523-525, 1 fig.

1. Ehrlich a démontré dans de toutes récentes expériences que les souris vaccinées par l'inoculation de carcinomes épithéliaux à virulence très atténuée se trouvent immunisées à la fois contre la greffe de carcinome, de sarcome et d'enchondrome virulent. Ce fait semble plaider encore en faveur de l'unité étiologique de ces différentes tumeurs. — P. EHRLICH. « Experimentelle Karzinomstudien an Mäusen ». *Zeitschrift für aertzliche Fortbildung*, 1906, n° 7.

thyroïde, du rein, de la rate, du testicule, des ovaires, font partie de la seconde.

L'étude de l'étiologie des tumeurs de la peau et des cavités naturelles démontre en effet l'existence de relations très étroites entre le processus néoplasique et l'inflammation ; on a souvent cité à ce propos le développement d'épithéliomas au niveau de fissures cutanées chez les ouvriers qui manient l'arsenic ou la paraffine. Le cancer de la langue est presque sans exception provoqué par la blessure d'une dent cariée et presque toujours une simple fissure précède de plusieurs semaines ou de plusieurs mois la néoformation épithéliale.

Cette notion des relations qui unissent le processus inflammatoire et le processus néoplasique est aujourd'hui classique. Nous lisons sur ce sujet, dans la *Pathologie Générale* de Bouchard, les lignes suivantes, écrites par M. Letulle :

« Sans entrer dans de trop longs détails, et sans juger à fond la question fort intéressante des tumeurs dans leurs rapports avec les lésions inflammatoires, l'anatomie pathologique peut, ici même, fournir quelques données. On sait, par exemple, que certaines tumeurs relèvent directement de l'inflammation, en tant que néoplasmes consécutifs à divers processus phlogogéniques. Laissons de côté les sarcomes végétants à type embryonnaire, dont la ressemblance avec le tissu de granulation, avec les bourgeons charnus, va parfois jusqu'à l'identité ; la nature de ces tumeurs est trop discutable pour entrer en ligne de compte. On n'en peut pas dire autant des chéloïdes cicatricielles, secondaires, par exemple, aux brûlures étendues, ou à d'autres plaies de la peau, et se développant exactement sur les zones de réparation : il est impossible de leur refuser une étroite corrélation avec l'inflammation qui les précéda naguère. Les fibromes et les fibro-sarcomes nés aux dépens des cicatrices, soit de la peau, soit d'une aponévrose enflammée, soit d'un périoste traumatisé, sollicitent les mêmes réflexions.

« Dans un ordre d'idées voisin, ne faut-il pas aussi rattacher les exostoses et les périostoses syphilitiques aux poussées d'ostéopathies aiguës, aux ostéomyélites gommeuses antérieures ? Le

lipome sus-claviculaire n'est-il pas, d'ordinaire aussi, un phénomène secondaire à une inflammation dite rhumatismale, et subaiguë, du tissu cellulo-adipeux de la région.

« Les fibromes lamellaires, plaqués, sous forme de larges amas, sur la convexité du foie et de la rate, au cours des hépatites et des splénites chroniques, les petits fibromes nodulaires, perlés, incrustés, en pleine pyramide de Malpighi dans les néphrites chroniques, constituent, également à ce point de vue, plus que de simples coïncidences. Il n'en va pas autrement, d'ailleurs, à propos de la coexistence très commune des myomes et des polypes utérins avec la métrite chronique ; de même enfin l'épulis, fibro-sarcome de la muqueuse gingivale, pousse, d'ordinaire, au contact d'une dent cariée.

« Pour ce qui est des tumeurs nées aux dépens des épithéliums de revêtement ou des épithéliums glandulaires, l'observation clinique signale, à tout instant, des faits identiques, dans lesquels lésions inflammatoires et néoplasmes épithéliomateux ont marché de pair. Le cancer des fumeurs, le carcinome de la langue greffé sur une leucoplasie buccale d'origine syphilitique, l'épithélioma développé sur une vieille cicatrice d'ulcère variqueux, sont autant d'exemples communément cités et d'une fréquence incontestable.

« Les adénomes multiples de la muqueuse de l'estomac (poly-adénomes gastriques) sont des tumeurs susceptibles d'une vitalité extrême ; le terrain qui leur donna naissance est phlogogénique au plus haut degré, puisque la gastrite chronique domine habituellement la scène, à la façon d'un signe prodromique. Les adénomes de l'intestin grêle et du gros intestin, très fréquemment liés à une entérite chronique antécédente, répondent souvent à un même processus post-inflammatoire.

« Pour ne pas quitter la variété de lésions tumorales dénommées adénomes, citons ces petits adénomes corticaux du rein, bénins à l'ordinaire et simple trouvaille d'autopsie, coïncidant presque toujours avec une néphrite chronique. Enfin, la coexistence des adénomes les plus variés (en tant que type histologique) avec l'hépatite chronique scléro-atrophique est commune au

point qu'elle a permis à certains auteurs de décrire une variété de cancer nodulaire du foie avec cirrhose.

« S'il fallait pousser plus loin les données du problème, on rappellerait encore les observations, plus nombreuses qu'on ne croit, de cancer de l'estomac ou du duodénum évoluant sur une gastrite ou une duodénite chronique ancienne, ulcéreuse ou non ; on rechercherait les liens qui existent entre l'épithélioma de l'anus et ses fistules cicatrisées, entre le carcinome primitif du poumon et la sclérose broncho-pneumonique simple ou tuberculeuse, entre les goîtres et le cancer du corps thyroïde. On noterait, au point de vue microscopique, les innombrables et si variées manifestations inflammatoires simples qui entourent, isolent ou réunissent les nodules carcinomateux dans tout organe en voie de cancérisation primitive (tissu de granulation péri-épithéliomateux avec innombrables mastzellen, nodules toni-infectieux para-carcinomateux, artérites et phlébites juxta-cancéreuses, etc). et l'on en fixerait la séméiotique » (1).

M. Ménétrier, dans le même ouvrage, insiste sur la fréquence du développement du cancer en des points atteints d'une inflammation chronique, dans les cas : de dermites professionnelles (ramoneurs, goudronneurs, briquetiers, gens de mer...), dans le cas de vieux psoriasis cutanés, de maladie de Paget du mamelon, dans les manifestations cutanées de la tuberculose et de la syphilis, dans les trajets fistuleux, les vieux cautères, les cicatrices, le psoriasis buccal, vulvo-vaginal, utérin ou pénien, le phimosis, l'ulcère de l'estomac, la gastrite chronique, la lithiase biliaire ou rénale, la sclérose pulmonaire avec dilatation bronchique (2), le rétrécissement de l'urèthre, etc.

Ces citations montrent clairement que la question des rapports du cancer et de l'inflammation est en réalité double et doit être étudiée sous deux points de vue différents :

1° Rapport de succession ou de coéxistence du cancer et

1. Ch. Bouchard, *Pathologie générale III*, 2, page 609.
2. Ménétrier « Epithélioma pulmonaire à globes épidermiques ». *Soc. Anat.* 1886.

d'une inflammation banale : cette partie du problème est la mieux connue et la plus claire.

2° Participation de l'inflammation au processus cancéreux. Cette seconde partie de la question comprend l'étude des œdèmes, des ascites, des pleurésies, des phlébites, des artérites, des névrites cancéreuses, et particulièrement des foyers d'infiltration embryonnaire qui s'observent dans la zône d'envahissement des noyaux cancéreux ; nous pouvons y ajouter la période inflammatoire et en quelque sorte prénéoplasique de l'adénite cancéreuse, où le ganglion est simplement enflammé et hypertrophié avant l'apparition des métastases cellulaires. Ces lésions si fréquentes ne peuvent pas s'expliquer suffisamment par l'action de la cellule cancéreuse elle-même, agissant à titre de parasite et venant irriter les tissus à son contact. Cette irritation agirait-elle physiquement, par compression et par désorganisation ou, chimiquement par les sécrétions pathologiques de la cellule cancéreuse ? Ce sont autant d'hypothèses improbables. Les exemples que nous avons donné plus haut tendent à démontrer plutôt qu'il existe un processus inflammatoire spécial, qui précède la néoformation cancéreuse et que c'est à cette inflammation précancéreuse ou concommitante avec le cancer qu'il faut attribuer les œdèmes, les phlébites, les névrites précités. Quant aux ganglions lymphatiques infectés, il est bien démontré histologiquement qu'avant d'être envahis par les cellules épithèliales ou sarcomateuses, ils passent presque toujours par une période de tuméfaction inflammatoire.

Un autre point qui rapproche les tumeurs de certaines maladies inflammatoires au point de vue du processus étiologique, est l'origine traumatique de beaucoup de néoplasmes.

Le traumatisme paraît produire une fixation du processus infectieux au niveau des tissus contusionnés, dont il diminue la résistance vitale. Il est facile de trouver des exemples de cette fixation du processus pathologique par le traumatisme dans l'histoire des maladies infectieuses, notamment dans la tuberculose et l'infection staphylococcique : les arthrites tuberculeuses, l'ostéomyélite épiphysaire se produisent le plus sou-

vent à la suite d'un traumatisme. Des bacilles tuberculeux ou des staphylocoques viennent-ils à pénétrer par l'amygdale ou par la muqueuse respiratoire ou digestive dans le courant circulatoire, ils peuvent demeurer longtemps inoffensifs dans leur course errante. Il leur suffit de se trouver fixés au niveau d'un foyer traumatique minime pour devenir le point de départ d'une tumeur blanche ou d'une ostéite épiphysaire.

La lésion infectieuse primitive a-t-elle été non plus un furoncle ou une angine vulgaire, mais une infection à streptocoques ou à pneumocoques, ce sont ces microbes qui se retrouvent dans ce foyer infectieux. Le traumatisme, en produisant une lésion locale, un foyer hémorragique, a déterminé une locus minoris resistentiae et les cellules microbiennes, inoffensives dans le torrent circulatoire se développent dans les foyers traumatiques comme dans un milieu de culture. La fixation au niveau d'un foyer nécrotique produit par une injection hypodermique de quinine, des spores tétaniques auparavant libres dans le plasma sanguin est un phénomène tout à fait comparable. Les microbes s'y multiplient dans les mêmes conditions que dans un foyer contus ou hémorragique. Supposons un microbe des néoplasmes, microbe aussi répandu que le pneumocoque ou le staphylocoque par exemple, un traumatisme quelconque déterminera, si le sujet est atteint de microbisme latent, dans une épiphyse l'ostéosarcome, dans le sein, l'adénome ou le carcinome.

Les rapports que nous avons signalés entre l'inflammation et le cancer nous amènent aux mêmes conclusions, également favorables à la théorie parasitaire.

Ici, c'est l'inflammation qui est l'agent vulnérant de nos tissus, et il est probable qu'un jour on découvrira, comme Metchnikoff a découvert dans l'estomac une sarcine dont la présence favorise le développement du bacille virgule de Koch et l'évolution du choléra asiatique, un parasite secondaire, susceptible de favoriser l'infection néoplasique. Le fait certain, c'est que le parasite

1. Vincent. « Tétanos et quinine » *Ann. Inst. Pasteur*, déc. 1904.

des néoplasmes conserve toute son activité en présence de microbes saprophytes très actifs comme les microbes du tartre et de la carie dentaire, les microbes du tube digestif.

Ce préambule était nécessaire pour expliquer tout l'intérêt des recherches expérimentales sur les animaux. En effet, sans entrer dans une discussion de détails, il est incontestable que les tumeurs observées dans beaucoup d'espèces animales présentent tous les caractères du cancer chez l'homme.

Certaines de ces tumeurs ont pu être inoculées en série d'un animal à l'autre, notamment plusieurs types du cancer de la souris étudiés par Morau, par Jensen de Copenhague, par Borrel, par Ehrlich de Francfort et depuis par d'autres expérimentateurs (1).

Certaines de ces inoculations ont abouti à des résultats inattendus, comme nous l'avons signalé plus haut, notamment la transformation, observée par Ehrlich, d'épithéliomes en sarcomes après passage sur un certain nombre de souris.

Ces recherches sur la greffre du cancer d'un animal à l'autre sont intéressantes, mais on peut faire cette remarque que les expérimentateurs qui étudient cette question se trouvent encore, pour l'étude du cancer, au même point où s'attardait Villemin lorsqu'il inoculait la tuberculose aux animaux sans en connaître l'agent pathogène.

De telles études ne restent cependant jamais stériles. Elles ont permis d'étudier les conditions dans lesquelles se produit spontanément le cancer chez les petits animaux.

M. Borrel a obtenu une quarantaine de souris cancéreuses d'un même élevage qui est fait dans des conditions de malpropreté tout à fait particulières. M. Borrel pense, comme l'avait déjà indiqué Morau, que les parasites des souris, peut-être des

1. Morau, *Archives de méd. expér.*, 1894, p. 677. — Jensen, *Hospitalstidende*, 1902, n. 19; 1903, n. 21 et 22 *Centralblatt* f. *Bactériologie*, 1903, Bd. 34 ; H. I et II. — Borrel, *Annales de l Inst. Pasteur*, 1903, n. 2. — Livingood, *The Johns Hopkins Hospital Bulletin*, 1896, n. 66 et 67. — Michaelis, *Deutsche Med. Wochenschr*, 1904, p. 1700. — Bashford, *Scientific reports on the investigations of the imperial cancer research fund*, n. 2, part. 11 1905.

acares, jouent un rôle très important dans la genèse de ces cancers spontanés en servant de véhicule au virus pathogène.

M. Doyen a obtenu des renseignements précis d'un de ces éleveurs de souris, dont tous les animaux proviennent d'une même famille de souris cancéreuses. L'hérédité, toutefois, ne paraît pas jouer un rôle appréciable dans la production de ces tumeurs, qui semblent provoquées par une infection spéciale provenant d'un même milieu contaminé.

Les tumeurs ne se reproduisent guère que chez les souris âgées de plus de 2 ans et exclusivement chez les femelles qui ont élevé plusieurs portées. La tumeur se développe tantôt au niveau d'une des mamelles postérieures, tantôt au niveau d'une mamelle antérieure ou d'une mamelle intermédiaire, quelque fois au niveau des deux mamelles à la fois.

Il est encore possible que les jeunes souris, élevées dans ce milieu contaminé de longue date, portent elles-mêmes en tétant le parasite au contact des mamelons, d'où il pénètre facilement à l'intérieur des conduits galactophores.

Cet éleveur de souris prend note sur un cahier de toutes les portées et a pu suivre ainsi la propagation du cancer sur un grand nombre de générations. Nous ne croyons pas néanmoins qu'on puisse conclure à l'hérédité mais à la grande contagionité du milieu. Plusieurs expérimentateurs ont en effet observé qu'il suffisait de faire vivre assez longtemps des souris d'une autre provenance dans une cage infectée pour voir se développer chez ces animaux un certain nombre de cas de cancer (1). Il est d'ailleurs certains élevages qui n'ont jamais fourni un seul cas. Ces observations concordent en tous points avec les observations déjà anciennes de Morau.

On sait qu'on a publié des observations de maisons à cancer. Les cas de contagion dans une même cage chez la souris leur donnent une importance toute particulière.

1. V. Halaand. *Ann. Inst. Pasteur*, 1905, pages 169 et suivantes. — L. Michaelis Ueber den Krebs der Maüse, I. *Zeitschr. fur Kresbforschung*, t. IV, pp. 1-17.

Il existe chez le rat blanc un autre mode de propagation du cancer qui mérite d'être signalé.

Le 22 mai 1906, M. Briand, vétérinaire, apportait au Dr Doyen un rat blanc qui présentait une volumineuse tumeur abdominale. L'animal qui venait d'être sacrifié une heure auparavant, fut autopsié avec les précautions d'asepsie les plus rigoureuses. Il existait au niveau du rein gauche, une tumeur allongée, kystique, du volume d'une grosse noix, présentant à sa partie antérieure une masse blanchâtre mamelonnée et qui offrait l'aspect bien connu d'une métastase cancéreuse.

Quatre tubes, contenant chacun 1/2 centimère cube de bouillon de mamelle de vâche furent ensemencés avec de volumineux fragments de cette tumeur, prélevés aseptiquement.

La pièce examinée en totalité montra qu'il existait un kyste principal contenant une sorte de caillot sanguinolent, sans adhérence aux parois et que le cancer s'était développé dans l'épaisseur des parois du kyste, dont il occupait une étendue relativement petite.

L'autre rein, triplé de volume, présentait l'aspect d'un rein polykystique. Il n'y avait pas de ganglions péritonéaux engorgés, ni d'autre lésion abdominale.

Les deux poumons, au contraire, présentaient en différents points une dégénérescence d'un gris rosé, identique à celle que nous signalerons plus loin dans les expériences d'inoculation du micrococcus neoformans au même animal. En un point surtout la lésion était d'un blanc bleuâtre et transparente à lumière directe. Il n'y avait pas d'adénopathie thoracique accentuée.

Des quatre tubes ensemencés, trois donnèrent des cultures vivaces de micrococcus neoformans, le quatrième ne donna pas de culture transplantable sur la gélose, mais laissa voir après coloration du sédiment par le Gram-éosine un certain nombre de diplocoques caractéristiques ét de petites colonies qui, comme il est fréquent, s'étaient arrêtées dans leur développement.

M. Doyen, faisant part de ces faits à M. Borrel, apprit de lui qu'il avait déjà observé cinq ou six cas de tumeurs abdominales spontanées chez le rat blanc se rapportant les unes au type sar-

come, les autres au type carcinome et que ces tumeurs s'étaient sans exception développées au contact immédiat d'un kyste parasitaire contenant le cysticerque du ténia du chat.

Une de ces tumeurs du type sarcomateux, a été apportée à l'Institut Pasteur par M. Laveran, qui a cité le cas dans sa réponse à la communication de M. Doyen au Congrès de Lisbonne. Ce sarcome a pu être greffé par M. Borrel sur un certain nombre de rats blancs, tandis que les greffes de carcinomes se sont résorbées sans exception (1).

Cette particularité est spéciale au rat, puisque chez la souris blanche, le cancer épithélial de la mamelle se reproduit par greffe sous-cutanée.

Ces cas de sarcome et de cancer spontané viscéral chez le rat blanc nous éclairent sur une nouvelle particularité de la transmission du cancer chez les animaux. En effet, la découverte par M. Borrel des premiers noyaux néoplasiques dans la paroi même du kyste parasitaire permet de supposer que le parasite a été le vecteur de l'agent pathogène.

N'étant pas instruit de cette coïncidence habituelle d'un kyste parasitaire et du cancer viscéral du rat blanc, M. Doyen n'a pris aucune attention au caillot central du kyste ni au cysticerque qui l'accompagnait et que son préparateur, M. Fauvel, jeta en même temps que le cadavre du rat. Ce cysticerque avait 6 centimètres de longueur environ, c'est-à-dire à peu près la dimension du cysticerque du rat sarcomateux de M. Laveran et que M. Borrel a conservé. Le rein droit contenait deux noyaux cancéreux primitifs, mais il n'y avait à leur voisinage que des kystes simples et multiples, comme on en observe dans la maladie kystique du rein chez l'homme.

Ces différentes observations de cancer viscéral chez le rat semblent démontrer, et nous nous rallions volontiers à cette opinion

1. Ces greffes se font en insérant sous la peau de la région thoraco-abdominale un petit fragment de tumeur fraîche avec un trocart de trois millimètres de diamètre.

pour la première fois exprimée par M. Borrel, que le germe pathogène, comme nous l'avons déjà signalé, pourrait être apporté au contact de la paroi du kyste par l'embryon du parasite. L'agent infectant doit donc se trouver dans le contenu intestinal, soit du chat, soit du rat lui-même.

L'examen des coupes de poumon était particulièrement intéressant, en raison de la similitude de l'aspect macroscopique de ces lésions spontanées avec les lésions que nous décrirons plus loin dans le poumon des rats ayant subi l'inoculation intra-péritonéale du micrococcus neoformans.

Les coupes en série montrent que les points du poumon les plus malades sont parsemés de néoformations papillaires de l'épithélium des petites bronchas, et que ces néoformations épithéliales sont entourées d'une infiltration très étendue de l'espace conjonctif péribronchique par de petites cellules rondes. En d'autres points où ces lésions sont confluentes, on voit les alvéoles pulmonaires voisins s'infiltrer d'un exsudat colloïde transparent. Cet exsudat englobe des cellules munies d'une capsule ayant l'aspect des cellules cartilagineuses. Nous verrons plus loin qu'on observe une lésion identique dans le poumon des rats qui ont subi l'inoculation intra-péritonéale de cultures pures.

Nous pouvons donc signaler ici l'identité des lésions pulmonaires consécutives à une infection provenant soit d'un cancer viscéral spontané, soit d'une inoculation microbienne dans le péritoine.

Ces développements sur l'évolution spontanée du cancer chez les animaux peuvent donc fournir quelques aperçus sur l'étiologie du cancer humain. M. Borrel a observé chez l'homme, un rapport étroit entre certains parasites, par exemple le demodex des follicules pileux, et le développement de l'épithélioma folliculaire de la peau. Il a aussi décrit devant la Société de Biologie, le 6 mai 1905, dans les tumeurs sous-cutanées des souris et leurs métastases pulmonaires des processus phagocytaires résultant de la résorption d'un gros parasite (cellules énormes, bourrées d'aiguilles rigides et d'écailles ; fragments pseudo-chitineux entourés de staubzellen).

Nous supposons qu'il faudra chercher de ce côté pour obtenir chez les animaux des tumeurs cancéreuses primitives. Parmi les expériences à poursuivre, il serait intéressant, par exemple chez la souris blanche, de faire vivre les mères et les petits de plusieurs générations dans des cases fréquemment arrosées de cultures de micrococcus neoformans. Il y a aussi à chercher si l'on obtiendrait pas en faisant boire le même bouillon aux souris blanches, de cancers viscéraux au voisinage des kystes parasitaires qu'elles présentent si souvent dans le foie.

La même expérience est à tenter chez le rat blanc en faisant absorber à des chats atteints de ténia des cultures de micrococcus neoformans, et en donnant ce même bouillon à des rats mis en contact avec les excréments de ces mêmes chats.

Ces expériences nous ayant été suggérées tout récemment à la suite de l'autopsie du rat blanc atteint d'épithélioma rénal, nous les indiquons comme un plan d'expériences ultérieures et nous allons étudier spécialement les résultats de l'inoculation directe du micrococcus neoformans aux animaux, sans artifice autre qu'une injection par la seringue de Pravaz.

Nous verrons que les résultats obtenus par cette méthode la plus simple sont du plus haut intérêt puisqu'une partie des lésions expérimentales que nous décrirons sont identiques aux lésions spontanées d'origine néoplasique observées chez les mêmes animaux.

CHAPITRE PREMIER

LE MICROCOCCUS NEOFORMANS

Il est un fait acquis aujourd'hui, c'est que, de tous les microbes qui ont été décrits comme parasites du cancer, un seul, le micrococcus neoformans, a résisté à la critique et se trouve considéré aujourd'hui comme le *parasite habituel* des tumeurs à évolution rapide, carcinomes ou épithéliomes.

La constatation dans les tumeurs malignes de la présence d'un nouveau microbe était déjà une raison suffisante de présumer que ce microbe jouait un rôle dans l'étiologie des tumeurs. Ne nomme-t-on pas le bacille de Hansen le bacille de la lèpre, simplement parce qu'on le trouve dans les tissus lépreux, sans avoir jamais pu ni le cultiver en série, ni par conséquent reproduire la maladie par inoculation de cultures pures?

Le micrococcus neoformans a été observé à Paris, à Berlin, à Moscou, à Nice, à Madrid, à Bruxelles, à Londres, en Colombie, etc... (1).

Les cultures observées sur tous les points du globe et provenant des tumeurs les plus variées soit du type sarcome, soit du

1. E. Doyen. *Etiologie et traitement du cancer*. Maloine, édit. 1904. — Dr J. Hornus, thèse Paris, 1905. — Dr Luciano Restrepo Isaza, thèse Medellin (Colombie) 1905 traduite dans le n° de février 1906, dans la *Revue de Médecine et de Chirurgie*. — Z. Karwacki (Varsovie). « Beitrag zur Kenntniss der Geswulstflora ». *Centralbl. fur. Bakter.*, t. XXXIX, 22 sept. 1905 ; pp. 369-380.

type carcinome, sont identiques. Il en est de même des cultures obtenues des tumeurs du chien, du rat, de la souris.

Nous rappellerons en quelques lignes les caractères de ce microbe, tels que les a déterminés Doyen.

L'ensemencement des fragments de tumeurs, prélevés avec une asepsie rigoureuse, doit être fait de préférence dans des tubes contenant environ un centimètre cube de bouillon de mamelle de vache, salé à 0,5 0/0 et peptonisé à 1,2 0/0. La culture se fait mieux quand le fragment de tumeur n'est pas entièrement recouvert par le bouillon.

Au bout de 18 ou 24 heures, parfois de 2, 3, 4 ou 5 jours seulement, se développent dans le bouillon des cocci isolés et des diplocoques, bientôt des triades et des tétrades et des chaînettes de 4 à 9 éléments, le plus souvent de diamètre très irrégulier. Beaucoup de ces chaînettes bifurquent en Y et paraissent bourgeonner à la manière des levures. Les cellules du micrococcus neoformans ont en moyenne 1/2 μ de diamètre, mais il en existe de deux μ et d'autres d'un diamètre cinq fois plus petit.

Le microbe jeune se colore par la méthode de Gram ; en vieillissant beaucoup des éléments cessent de retenir le violet phéniqué après l'action de l'iode et sont teintés en rose après double coloration avec l'éosine ou la fuschine faible. La première culture sur bouillon des fragments de tumeur se transplante aisément sur la gélose ordinaire, où elle forme un enduit mince, blanc-grisâtre, adhérent à l'aiguille de platine et s'étirant en filaments quand on cherche à en prélever une parcelle. La gélatine peptone ordinaire commence à se liquéfier vers le troisième ou le quatrième jour, deux fois moins vite que dans la culture du staphylocoque doré.

Le microbe ensemencé par piqûres sur gélose glucosée, se développe à la surface comme aérobie sous forme d'une petite corolle blanche, parfois teintée d'un liseré jaune pâle, et dans la profondeur comme anaérobie sous forme de strie assez épaisse.

Nous n'avons pas à insister sur les autres caractères de cul-

ture, pas plus qu'à discuter ici l'origine aujourd'hui bien établie du micrococcus neoformans.

Les expériences de contrôle qui ont été faites à l'Institut Pasteur par M. Metchnikoff ont confirmé au point de vue de l'origine du microbe et de ses caractères différentiels, les recherches de Doyen.

Nous ne savons pas dans quel état le micrococcus neoformans exerce sa virulence, s'il est l'agent producteur des néoplasmes. N'en est-il pas de même de microbes nettement pathogènes comme le bacille typhique, le bacille virgule du choléra asiatique, le bacille de la diphtérie, et beaucoup d'autres virus qui présentent de longues périodes d'inactivité et des réveils inexpliqués.

Or, pour le micrococcus neoformans, M. Doyen a démontré qu'il existe dans les néoplasmes à un certain stade de son évolution où il n'est pas colorable par la méthode de Gram.

Dès que les fragments de tumeur sont mis en culture, on peut colorer, pour peu que les fragments soient friables, dans le sédiment du bouillon, formé de suc cancéreux, des cocci présentant le même caractère, c'est-à-dire colorables par un séjour de 24 heures dans le violet cristallisé en solution aqueuse et se décolorant après l'action de l'iode ou même de l'alcool fort.

Si l'on examine les tubes de bouillon contenant des fragments de tumeurs toutes les six heures, on remarque bientôt en faisant des préparations par le violet Gram avec double coloration par l'éosine, que les microcoques augmentent sensiblement de nombre avant qu'ils ne prennent le Gram. Les microcoques sont simplement colorés de rose, quelques heures plus tard une partie d'entre eux prend le Gram et bientôt on n'en observe plus aucun qui demeure coloré en rose. Cette particularité est encore plus marquée sur les cultures obtenues par l'ensemencement des tumeurs du chien, où la plupart des cellules microbiennes tendent à se décolorer après l'action du violet phéniqué et de l'iode si l'on prolonge quelque peu l'action de l'alcool.

Il est donc démontré que le micrococcus neoformans lorsqu'on l'extrait de suc cancéreux, commence par se multiplier dans

un état où il ne reste pas coloré en violet par la méthode de Gram.

Lorsque la culture est vivace, tous les microbes prennent le Gram pour perdre partiellement cette propriété dans les vieilles cultures.

On observe d'autre part, en inoculant le Micrococcus neoformans aux animaux que le microbe pénètre immédiatement dans le protoplasma des cellules, comme un parasite intra-cellulaire et qu'au bout de 12 à 15 jours au plus il est à peu près impossible de retrouver quelques éléments colorables par la méthode de Gram.

Il est donc vraisemblable que les procédés de culture actuellement connus nous laissent échapper un stade de la vie de ce microbe où il est susceptible d'exercer au plus haut degré son action pathogène. De nouvelles expériences éclaireront sans doute ce côté de la question.

Pour répondre à la critique de M. Laveran qui, au congrès de Lisbonne, opposa à M. Doyen l'absence prétendue du micrococcus neoformans dans les tumeurs des animaux, nous ajoutons à l'observation de culture positive d'un carcinome rénal spontané du rat consignée dans notre introduction, le procès-verbal suivant du dernier essai de culture d'une tumeur à évolution rapide de la chienne.

Le 5 mai 1906, M. Briand apporte au laboratoire du D[r] Doyen une chienne à laquelle il avait enlevé un mois auparavant un lipome très volumineux de la région périnéale. L'animal présentait déjà à cette époque une tumeur très dure de la mamelle postérieure droite.

Le jour où nous avons vu cette chienne, elle était porteuse de deux tumeurs principales, celle de la mamelle postérieure droite, plus grosse qu'un œuf de pigeon, et une autre dans la mamelle symétrique à gauche, ainsi qu'un grand nombre de petits noyaux sous cutanés disséminés sur toute la surface thoracique et abdominale.

La tumeur de la mamelle gauche, celle de la mamelle droite et deux petits noyaux des mamelles antérieures, extirpées asep-

tiquement ont servi à ensemencer 7 tubes de bouillon de mamelle de vache. 48 heures après, quatre tubes avaient poussé. Ils contenaient un coccus polymorphe avant tous les caractères du micrococcus neoformans avec cette particularité déjà constatée, qu'il se décolorait par le Gram beaucoup plus rapidement que l'espèce provenant de l'homme. La culture sur gélose était caractéristique.

Les trois tubes qui n'avaient pas cultivé montraient le 9 mai à l'examen du sédiment par le Gram-Eosine de petits groupes de cocci à grains inégaux dont quelques-uns gardaient le violet.

La transplantation sur gélose et sur bouillon resta négative.

L'examen histologique de la tumeur a appris qu'il s'agissait d'un sarco-épithéliome mammaire.

Les 2 et 3 juin M. Doyen a obtenu une culture pure de micrococcus neoformans d'un cancer spontané de la mamelle de la souris blanche.

CHAPITRE II

TECHNIQUE

Nous décrirons successivement dans ce chapitre la recherche du micrococcus neoformans, son inoculation aux animaux et les meilleurs procédés de fixation et de coloration des pièces pathologiques.

Préparation des milieux de culture.

1° *Bouillon de mamelle de vache.*

Faire macérer 500 grammes de mamelle de vache dégraissée et hachée dans 1.000 grammes d'eau distillée. Le bocal doit rester 24 heures dans la glacière. Exprimer dans un linge de toile.

On obtient environ 800 centimètres cubes. Ajouter de l'eau distillée jusqu'à 1.000 cmc.

Ajouter ensuite 12 gr. de peptone Chapoteaut et 5 gr. de chlorure de sodium pur.

Chauffer dans l'autoclave à 125° pendant 1/2 heure. Laisser refroidir. Filtrer et répartir en ballons de 250 gr.

Stériliser les ballons bouchés d'ouate à 120°.

Il peut se produire un trouble léger. On laissera déposer pendant deux ou trois semaines avant de répartir ce bouillon en tubes.

Les tubes seront remplis au quart de leur hauteur pour la

transplantation de vieilles cultures. Pour les ensemencements de fragments de tumeur et de ganglions, ils ne devront contenir que 1 ou 2 centimètres cubes de bouillon, les fragments ensemencés ne devant pas être recouverts par le liquide.

2° *Bouillon glycériné.*

Faire macérer 500 gr. de viande de bœuf dégraissée et hachée dans 1.000 gr. d'eau distillée et répéter les manipulations ci-dessus décrites.

Après avoir filtré le bouillon, on ajoute 4 0/0 de glycérine pure, on répartit en ballons et on stérilise à 120°.

Ces bouillons ont une réaction acide.

Le col de chaque ballon, après avoir été bouché d'ouate, doit être recouvert d'un capuchon de papier.

3° *Gélose ou agar-agar.*

Préparer 1.000 gr. de macération de viande de bœuf (Voir 1° et 2°).

Ajouter 12 gr. de peptone et 5 gr. de chlorure de sodium

Chauffer à 60° environ et alcaliniser légèrement avec une solution de carbonate de soude à 10 0/0.

Ajouter 2 0/0 de gélose.

Chauffer à 125°, filtrer à chaud, répartir en tubes et stériliser à 120°.

Incliner les tubes.

4° *Gélose glucosée.*

Même préparation que ci-dessus.

On ajoute au liquide chaud sortant de l'autoclave, avant la filtration, 2 0/0 de glucose.

On filtre, on répartit en ballons ou en tubes et on stérilise à 120°.

5° *Gélatine.*

Préparer 1.000 gr. de macération de viande de bœuf (Voir 1° et 2°).

Ajouter 12 gr. de peptone, 5 gr. de chlorure de sodium, et 100 gr. de gélatine blanche de Coignet (1re qualité).

Chauffer à 60° environ, alcaliniser légèrement avec la solution de carbonate de soude à 10 0/0.

Chauffer à 100° dans l'autoclave, sans visser le couvercle, pendant 1/2 heure.

Filtrer à chaud et répartir en tubes. On fera ensuite la stérilisation discontinue, en soumettant les tubes quatre jours de suite, pendant 5 minutes, dans un autoclave dont le couvercle ne sera pas vissé, à la température d'environ 100°.

On peut conserver les tubes de gélatine pendant 5 ou 6 mois en étirant et en soudant chaque tube à sa partie supérieure. On brise l'extrémité pour l'ensemencement et on ferme de nouveau à la flamme d'un bec Bunsen.

Si les tubes sont bouchés d'ouate, le contenu s'évapore assez vite. On remplira les tubes dont la gélatine commence à se dessécher avec de l'eau distillée stérilisée, jusqu'au niveau primitif et on fera de nouveau la stérilisation discontinue (Voir plus haut).

Les cultures sur gélatine doivent se faire à la température de 20° centigrades.

Il peut être nécessaire, pendant les chaleurs de l'été, de refroidir une petite étuve à serpentin par un courant d'eau froide.

Ensemencement des fragments néoplasiques.

Les tumeurs doivent être prélevées avec des instruments aseptiques, sans être touchés avec les doigts, et recueillis dans des compresses préalablement stérilisées à l'autoclave à 130°. On fera l'ensemencement aussi tôt que possible après l'opération, avec des instruments stérilisés à 160°.

Le milieu de choix est le bouillon de mamelle de vache, préparé suivant la formule indiquée plus haut.

Les cancers généralisés au péritoine donnent les cultures les plus démonstratives, ces tumeurs étant habituellement aseptiques. Le microbe se développe au plus tôt au bout de 16 à 18 heures, au plus tard au bout de 5 à 6 jours, le plus souvent après 24, 36 ou 48 heures. On repique la culture en bouillon sur gélose ordinaire inclinée pour voir si elle reste unie et blanc-grisâtre. Quand on observe une teinte jaunâtre, il y a contamination par le staphylocoque doré, ce qui est assez fréquent pour les ganglions axillaires, dans le cancer du sein ulcéré. La culture pure sur gélose inclinée doit devenir *filante* après 24 ou 48 heures, et s'étirer au contact de l'aiguille de platine.

On différenciera le micrococcus néoformans du microcoque polymorphe de la peau en ensemençant la culture sur gélatine. Un tube témoin sera ensemencé avec du staphylocoque doré. Le Micrococcus néoformans doit liquéfier la gélatine à peu près comme le bacille virgule du choléra asiatique et deux fois moins vite que le staphylocoque doré.

Le microcoque polymorphe de la peau ne liquéfie pas la gélatine, où il se cultive en forme de clou.

Toute culture sur gélose inclinée doit devenir filante au bout de deux ou trois jours.

Les jeunes cultures de 12 à 18 heures sur gélose inclinée sont fluorescentes par transparence à la lumière artificielle. Les vieilles cultures s'amincissent, adhèrent à la surface de la gélose et sont presque transparentes.

On conserve les cultures par piqûre sur gélose glucosée. Il faudra les renouveler tous les mois.

Technique des inoculations.

Les lésions les plus caractéristiques obtenues jusqu'ici ont été trouvées chez la souris blanche et chez le rat blanc. Voici la technique des inoculations suivie par M. Doyen.

On devra cultiver une certaine quantité de fragments de

tumeurs et de ganglions, 15 ou 20. Au bout de 24 à 48 heures toutes ces cultures seront transplantées sur gélose inclinée pour voir s'il n'y a pas de contamination par le staphylocoque doré et si elles sont filantes au contact de l'aiguille de platine. On ensemencera au bout de 24 heures, avec les cultures sur gélose, autant de tubes de gélatine, pour vérifier la liquéfaction du milieu. Les tubes de gélose les plus typiques serviront à ensemencer 20 ou 30 tubes de bouillon glycériné et ensuite de gros tubes de gélose inclinée pour développer les cultures.

Les tubes de bouillon demeurés stériles au bout de 24 heures seront de nouveau ensemencés sur gélose le 3e et le 4e jour, afin de juger si la culture s'est développée. Le 6e ou le 7e jour tous les tubes de bouillon originaux correspondant aux numéros d'ordre des tubes de gélose *vérifiés purs* sont vidés dans un verre stérilisé, les fragments de tissus sont coupés en petits morceaux et pilés dans un mortier et le tout est passé dans un fin tamis métallique. On y ajoute les cultures des gros tubes de gélose, délayées dans les cultures jeunes sur bouillon: Il est facile de faire ces manipulations en vases stérilisés avec une asepsie rigoureuse. On injectera de cette émulsion 1/4 de centimètre cube dans le péritoine de la souris blanche ; 1 à 2 centimètres cubes dans le péritoine du rat blanc, suivant la grosseur des animaux.

Il faut avoir pour chaque inoculation 25 à 30 souris et autant de rats. On peut inoculer certaines séries avec des cultures de cancer de l'ovaire, par exemple, d'autres avec des cultures de sarcome ou d'ostéosarcome encéphaloïde. On peut aussi mélanger à l'émulsion des microbes très jeunes, des cultures sur gélose de microbes recueillis plus anciennement et remontant à 15 jours ou à 20 jours, par exemple.

Les cultures trop anciennes paraissent perdre une partie de leur virulence.

Les inoculations sous-cutanées sont moins actives et peuvent être faites, notamment chez le chien, dans la mamelle. Il est facile d'inoculer simultanément des chiennes de moyenne taille dans le péritoine et dans les mamelles, en faisant précéder

l'inoculation chez quelques animaux comme agent irritant d'une injection d'un mélange stérilisé de vaseline et de paraffine à 40°.

Cet essai d'injection de vaseline et de paraffine a été suggéré à M. Doyen par le développement à la racine du nez d'une jeune fille à la suite d'une injection prothétique de paraffine d'une tumeur conjonctive qui a deux fois récidivé.

Cette tumeur a donné à la culture le micrococcus neoformans.

Action pathogène du micrococcus neoformans.

Nous allons décrire l'ensemble des résultats obtenus par l'inoculation du micrococcus neoformans aux animaux et la technique employée pour la conservation et l'examen microscopique des pièces, nous reviendrons en détail sur les lésions les plus caractéristiques dans le chapitre suivant.

Les lésions les plus démonstratives s'observent en série chez le rat blanc. Une des difficultés de ces expériences est d'éviter chez ces animaux, qui sont très malpropres, les infections secondaires, et surtout celles par le staphylocoque doré, qui abonde chez eux à la surface de la peau et dans les follicules pilo-sébacés. Aussi a-t-il été fait un certain nombre d'inoculations directes dans le péritoine, par une petite ouverture de la ligne blanche, après incision de la peau.

Il est rare que des lésions intéressantes s'observent avant la fin du deuxième mois. Il a cependant été obtenu, chez des animaux qui ont succombé, le 1er, 9 jours, le 2e et le 3e, 13 jours après l'inoculation, une lésion du foie caractérisée par une périhépatite intense, où les cellules conjonctives sont bourrées de micrococcus néoformans en voie de destruction phagocytaire, et par des foyers miliaires et nodulaires de cellules néoformées. Ces foyers miliaires détruisent le tissu hépatique et sont assez analogues à de petits nodules sarcomateux. Ces lésions hépatiques ont été observées également chez des rats morts au bout d'un temps plus long. Nous n'insisterons cependant pas sur cette lésion miliaire du foie, parce qu'il est trop facile de la critiquer

en la rejetant au rang des lésions purement inflammatoires.

Nous laisserons de côté pour le même motif la formation, chez les mêmes animaux, de nodules analogues aux nodules hépatiques ci-dessus décrits, dans les poumons et dans les ganglions lymphatiques.

Ces lésions, en effet, ne sont pas assez caractéristiques pour permettre d'affirmer qu'il ne s'agit pas d'un processus inflammatoire.

Les lésions les plus intéressantes s'observent dans le poumon, de 2 à 4 mois après l'inoculation. Les animaux en expérience doivent être surveillés plusieurs fois par jour, afin de les tuer au moment où ils sont prêts à mourir. En effet, les pièces recueillies plusieurs heures après la mort sont beaucoup moins démonstratives macroscopiquement.

Ces lésions présentent deux types bien distincts :

1° Une infiltration partielle du poumon par des noyaux qui présentent tous les caractères du cartilage hyalin.

2° Une sorte d'hépatisation d'un gris-rosé, et qui affecte le plus souvent les lobes inférieurs. Nous laisserons de côté les cas où les poumons sont partiellement transformés en alvéoles caséeux, ces cas se rapportant à des infections secondaires accidentelles.

M. Doyen a également observé la production au bout de trois mois chez une guenon d'un adénome kystique expérimental de la mamelle, chez un rat la production de petits noyaux de lymphadénome du testicule et chez une femelle un fibro-sarcome de la trompe de Fallope, chez une chienne de chasse deux lipomes sous-cutanés assez volumineux développés en deux mois au voisinage de la mamelle, aux points d'inoculation, chez la souris blanche, deux cas de lipome arborescent péri-utérin. Ces tumeurs remplissaient le péritoine par leur volume considérable. D'autres souris ont présenté diverses lésions épithéliales, notamment des végétations papillaires des bronches, aboutissant dans un cas à la formation d'un adénome sphérique d'un certain volume.

Nous allons décrire la technique de l'autopsie des animaux,

la préparation des pièces macroscopiques et des coupes histologiques :

Autopsie des animaux.

Tout animal languissant doit être tué, afin d'éviter la putréfaction des viscères, qui est souvent très rapide. Il faut donc surveiller les animaux au moins trois fois par 24 heures.

On épingle les pattes sur une feuille de liège et on détache la peau du ventre et du thorax. On ouvre alors le péritoine avec des ciseaux et des pinces aseptiques. On examine les organes génitaux, mâles ou femelles, le plus souvent sains.

La région du coecum peut présenter des lésions irritatives et des ganglions volumineux, enflammés ou kystiques.

On examine en le dévidant tout l'intestin avec le mésentère, puis l'estomac, la rate, le pancréas. Le foie leur adhère dans certains cas.

On durcira en masse les organes adhérents pour obtenir des coupes démonstratives.

Il faut toujours prélever au moins deux fragments du foie serait-il sain d'apparence.

On ouvre alors le thorax. On sectionne en haut le pédicule trachéo-vasculaire pour extraire à la fois tout le contenu thoracique. On détache le cœur, puis les deux poumons, qui sont durcis séparément, ainsi que la totalité du contenu du médiastin, avec ses ganglions lymphatiques. On distingue à leur aspect blanc-bleuâtre et à leur transparence les noyaux cartilagineux ; les lobes atteints de lésions épithéliales sont le plus souvent d'un gris rosé et tombent au fond du liquide conservateur.

Préparation des pièces macroscopiques.

Les pièces macroscopiques intéressantes peuvent être conservées avec leur couleur par la méthode de Kaiserling.

Les pièces sont lavées superficiellement dans l'eau salée, afin

d'enlever les caillots superciels fibrineux ou autres qui nuiraient à leur aspect.

On le faits séjourner 24 heures dans le liquide suivant :

Solution n° 1

Eau.	4.000
Formol 40 0/0	400
Acétate de potasse.	120
Nitrate de potasse.	60

Les pièces très volumineuses devront y séjourner 48 heures. Les pièces dont nous nous occupons ici sont généralement de très petit volume.

On les fait séjourner ensuite pendant 24 heures dans la solution n° 2 où la couleur primitive réapparaît presque intégralement :

Solution n° 2

Alcool à 90°	3.500
Eau.	500

puis on les conserve dans la solution n° 3.

Solution n° 3

Eau.	3.000
Glycérine	1.500
Acétate de potasse	800

Lorsque la préparation est bien réussie, elle doit avoir conservé à peu près sa teinte primitive.

Fixation et inclusion des pièces

Les fragments à examiner devront séjourner 12 ou 24 heures suivant leur volume dans le liquide suivant, dont la formule a été déterminée par M. Doyen :

Bi-chlorure de mercure	40	grammes
Acide acétique cristallisable . . .	20	»
Alcool à 90°	600	»
Eau.	600	»

Il faut 50 cmc de liquide pour fixer 1 cmc de tissu.

Ce liquide fixateur donne d'excellents résultats pour tous les tissus sans exception, y compris les tissus si fragiles des viscères des petits animaux.

Les pièces, en sortant de ce liquide, sont plongées dans l'alcool à 90°, qui prend au début une teinte jaune sale. On devra changer l'alcool, pendant 2 ou 3 jours, jusqu'à ce qu'il reste incolore. On plonge alors les fragments dans l'alcool absolu pendant 12 heures, dans le xylol pendant 10 à 12 heures, puis dans un mélange à parties égales de xylol et de paraffine Dumaige fusible à 48°, où elles devront demeurer 12 à 24 heures dans une étuve à 37°. On les dispose alors dans une capsule d'étain et on les recouvre de paraffine fusible à 48° et liquéfiée à l'avance. La capsule doit demeurer 24 heures dans une étuve à la température de 46 à 48°.

On vide alors la paraffine fusible à 48° et on la remplace par de la paraffine fusible à 50°, fondue à l'avance. On y laisse séjourner les fragments deux à trois heures environ.

Il faut donc avoir deux types de paraffine Dumaige, l'une fusible à 48°, l'autre fusible à 50°.

On vérifie alors l'orientation des pièces et on place chaque capsule d'étain dans l'eau froide.

On fait les coupes en série avec le microtome Minot. Les préparations sont collées sur lames avec un mélange de blanc d'œuf et de glycérine à parties égales, qui sera additionné après filtration, d'un cristal de thymol.

Coloration des coupes.

1° *Hématéine.*

On laisse sécher 10 à 12 heures à la température de la chambre. On dissout la paraffine par le xylol, on passe à l'alcool

absolu, puis à l'alcool à 90°. Après un séjour de 2 minutes dans l'eau, on couvre les coupes d'hématéine pendant 5 à 10 minutes, et on les lave à l'eau filtrée ; puis les coupes sont passées pendant 2 ou 3 minutes dans une solution aqueuse de carbonate de soude à 40/0, et encore à l'eau filtrée. On procède à la déshydratation par l'alcool absolu et le xylol, pui on monte au baume ou à la résine Damar.

Solution d'hématéine

Hématéine de Grubler.	1 gr.	Alun de potasse en cristaux.	25 gr.
Alcool à 90°. . . .	50 gr.	Eau	500 gr.

Faire dissoudre séparément au bain-marie l'hématéine dans l'alcool et l'alun dans l'eau, mélanger après refroidissement et filtrer. Pour éviter les moisissures il est bon de placer dans la solution un petit morceau de thymol.

Il est bon de faire la solution d'hématéine à l'avance, car la coloration n'est bonne que lorsqu'elle date d'une quinzaine de jours.

2° *Coloration du tissu fibreux par le liquide de Van Gieson.*

On peut faire la coloration à la fuschine acide et picrique de Van Gieson sur les coupes déjà fortement colorées à l'hématéine.

Si la coupe est déjà montée on en enlèvera le baume par le xylol, on passera la lame à l'alcool absolu, l'alcool à 90° et à l'eau.

Coloration par le liquide de Van Gieson, de Grübler, pendant 2,5. Laver à l'eau quelques secondes. Alcool absolu, xylol, baume.

Le tissu fibreux est d'un rouge vif, les épithéliums sont jaunâtres. Si l'on veut obtenir la double coloration d'emblée, on colore fortement par l'hématéine pendant 10 minutes, on lave à l'eau, au carbonate de soude, de nouveau à l'eau et on fait la double coloration avec le liquide de Van Gieson pendant 2 minutes 1/2.

3° *Coloration des fibres élastiques par l'orcéine.*

Pour les poumons il est nécessaire de colorer les fibres élastiques, afin de constater leur absence ou leur destruction dans les noyaux cartilagineux ou épithéliaux.

On colore 24 heures, dans un tube de Borrel, avec le liquide suivant :

Orcéine.	50 centigr.
Alcool à 90°.	80 centimètres cubes
Eau.	40 » »
Acide chlorrhydrique pur .	40 gouttes

Laver à l'eau pendant une minute et décolorer par la solution suivante :

Alcool à 90°	40 centimètres cubes
Eau.	10 » »
Acide chlorhydrique . .	20 gouttes

pendant 10 minutes environ :

On traite ensuite par l'alcool absolu, le xylol et baume ou la résine Damar.

Les fibres élastiques sont d'un rouge cerise foncé, et la préparation d'un rose pur.

On peut faire virer la coloration des fibres élastiques au violet foncé en faisant agir après décoloration la solution suivante :

Eau	100 gr.
Carbonate de potasse.	10 gr.

Coloration du micrococcus neoformans.

Pour colorer le microbe dans les coupes on peut employer soit la méthode de Gram, soit l'azur 2 éosine, suivant la formule de Giemsa.

Méthode de Gram. — Colorer le fond par le Picro-carmin en solution aseptique, pendant 5 à 10 minutes.

Laver à l'eau stérilisée.

Colorer ensuite les coupes pendant une minute exactement avec la solution suivante, qui doit être préparée au moment de l'employer :

Eau phéniquée à 0,5 0/0.	9 cmc.
Solution alcoolique concentrée de violet cristallisé.	1 cmc.

Au bout de 60 secondes de contact avec cette solution, on lave la préparation en y laissant tomber quelques gouttes de la solution iodée de Gram.

Iode en cristaux	1 gr.
Iodure de potassium.	2 gr.
Eau.	300 gr.

La solution iodée doit rester exactement en contact avec la préparation pendant 60 secondes.

Décoloration à l'alcool absolu jusqu'à disparition des cristaux d'iode et de violet.

Eclaircissement par le xylol, montage dans la résine Damar.

Prépàration du picro-carmin aseptique. — *a.* Faire dissoudre 3 grammes de carmin (N° 40) dans :

Eau distillée	100 cmc.
Ammoniaque.	15 cmc.

b. Faire dissoudre en chauffant à 70° environ 1 gramme d'acide picrique dans 100 cmc. d'eau distillée.

Il faut de 4 jours pour bien dissoudre le carmin, l'acide picrique se dissout presque immédiatement.

c. Le carmin étant complètement dissout, prendre une capsule propre, y verser 400 cmc d'eau distillée et faire bouillir.

Lorsque l'eau bout, verser presque goutte à goutte le carmin en solution en ayant soin d'agiter constamment le liquide ; ajouter ensuite en agitant de la même manière la solution aqueuse d'acide picrique.

d. Faire bouillir le mélange jusqu'à ce que l'odeur ammoniacale ait entièrement disparu. Il faut environ 1/2 heure d'ébullition en ayant soin d'ajouter de l'eau distillée au fur et à mesure de l'évaporation pour compenser la perte de liquide produite par l'ébullition. Il doit y avoir 600 grammes de liquide.

Laisser refroidir complètement.

e. Filtrer deux ou trois fois jusqu'à disparition de tout précipité.

Mésurer la quantité de carmin obtenu qui sera après filtration de 500 cmc environ, verser le liquide dans un cristallisoir et le placer à l'étuve à 37° jusqu'à ce que la quantité *soit réduite de moitié*, soit 250 gr. environ. Il faut 3 ou 4 jours pour obtenir ce résultat.

Filtrer ensuite de nouveau et verser le picro-carmin dans un flacon bouché à l'émeri.

Il est bon d'ajouter à la solution de carmin un cristal de thymol pour éviter le développement des moisissures.

Le carmin ainsi obtenu peut être employé immédiatement. Il est comparable aux solutions d'hématoxyline qui, au fur et à mesure qu'elles vieillissent, donnent une intensité de coloration du plus en plus forte.

Au bout d'un an, ce carmin est devenu tellement puissant comme colorant que l'on est forcé de le diluer.

On peut l'employer après la coloration à l'hématéine ou à l'hématoxyline. Il rend de précieux services comme colorant du fond des préparations : le tissu conjonctif, les épithéliums, les fibres musculaires, le sang, sont nettement différenciés.

Ce picro-carmin est excellent pour la recherche des microbes par la double coloration au violet phéniqué par la méthode de Gram.

Il a de plus le grand avantage de ne pas décoller les coupes collées à l'albumine glycérinée.

Coloration par la solution d'azur 2 éosine de Giemsa. — La solution d'Azur 2 éosine de Giemsa est délicate à préparer. On trouve les matières premières chez Grübler.

Voici la formule de Giemsa (1) :

Azur 2 Eosine	3 gr.
Azur 2	0,8
Glycérine chimiquement pure (Merck)	250 gr.
Alcool méthylique pur (Kahlbaum I)	250 gr.

Il faut faire la solution à chaud à une température d'environ 50° centigrades, en agitant le liquide et filtrer après refroidissement.

Cette solution est difficile à réussir et il vaut mieux employer la solution toute faite, telle que la vend Grübler.

La coloration est faite de la manière suivante :

Solution de Giemsa	1 cmc.
Eau ordinaire (non distillée)	9 cmc.

Colorer pendant 25 à 26 heures environ.

Laver à l'eau ordinaire pendant 10 minutes environ :

Alcool absolu, xylol, baume.

On obtient surtout de belles préparations avec les lésions jeunes contenant le micrococcus neoformans.

Le fond est coloré en bleu intense, tandis que le microbe est d'un rouge cerise qui tranche nettement sur le fond.

S'il existe une infection concomittante de staphylocoques, le staphylocoque reste bleu.

1. Giemsa « Coloration des protozoaires ». *Ann. Instit. Pasteur*, 25 mai 1905.

CHAPITRE III

DESCRIPTION DES LÉSIONS OBSERVÉES CHEZ LES ANIMAUX EN EXPÉRIENCE

Les lésions observées après inoculation du micrococcus neoformans affectent tantôt les tissus d'origine mésodermique seuls, tantôt les épithéliums. Parmi les premières, nous citerons :

1° Deux lipomes sous-cutanés de la région intermammaire développés en deux mois chez une chienne de chasse après inoculation du micrococcus neoformans.

2° Deux cas de lipome arborescent développés dans le mésentère de l'utérus et des annexes, chez la souris blanche, et ayant acquis pour cet animal un volume considérable.

La planche I, fig. 1, donne une idée du volume relatif d'un de ces lipomes arborescents qui distendait l'abdomen au point que l'animal pouvait à peine se traîner et dut être tué, étant près de mourir.

Il existait en outre chez cette souris une lipomatose viscérale généralisée et un lipome du volume d'un haricot autour de l'appendice xyphoïde. La souris B fut inoculée dans le péritoine le 31 décembre 1904 avec une culture de sept jours provenant d'un ostéosarcome du fémur, et tuée mourante le 26 janvier 1905.

La pièce macroscopique, qui comprend l'animal tout entier a été fixée par la méthode de Kaiserling.

On remarquera sur la planche I que le lipome arborescent s'est développé au-dessous de l'arcade formée par les deux trompes et le sommet de l'utérus, c'est-à-dire en un point où il n'existe jamais chez la souris d'appendices épiplooïques appréciables. De plus, les deux souris qui ont présenté cette lésion étaient des souris jeunes et qui n'avaient pas encore atteint leur développement complet. Ces lipomes arborescents avaient l'aspect d'un immense tablier épiploïque qui se trouvait replié en haut vers le diaphragme et distendait la cavité péritonéale au point de déterminer la suffocation de l'animal

Les coupes histologiques montrent que le tissu lipomateux néoformé englobe, en faisant corps avec eux, le tissu de l'appendice xyphoïde et le tissu de l'ovaire, dont l'épithelium germinatif est absent (Pl. I, fig. 2).

La seconde souris qui présenta cette lésion est inscrite sur le registre des expériences : Souris L, inoculée le 31 décembre 1904 dans le péritoine avec la même culture que la souris B.

Tuée mourante le 15 mars 1905.

L'examen histologique a démontré, comme chez la souris B, que le tissu adipeux néoformé se continue avec le tissu de l'ovaire et fait corps avec lui. Il s'agit donc bien d'une néoformation pathologique. Cette lésion, d'ailleurs, n'a jamais été observée chez les souris témoins, et l'hypertrophie de l'abdomen a commencé chez chacun de ces deux animaux une quinzaine de jours après l'inoculation.

3° *Lymphadénome de l'épididyme chez le rat blanc.* — Nous citons pour mention un cas d'inoculation du micrococcus neoformans dans le testicule du rat blanc ayant déterminé la production de plusieurs petits foyers de lymphadénome. Cette expérience n'a pas été répétée parce que le testicule du rat blanc paraît opposer une trop grande résistance à l'action pathogène du micrococcus neoformans. L'animal a été tué 5 mois après l'inoculation.

Ces petits foyers de lymphadénome ne paraissaient d'ailleurs pas en voie de prendre une extension considérable et l'animal a été sacrifié trop tôt. Il est vrai qu'on ne pouvait pas prévoir

l'existence d'une lésion de formation récente, qui eut été peut-être susceptible d'une évolution intéressante.

4° *Fibro-sarcome de la trompe de Fallope* (1). — Cette lésion a été observée chez un rat femelle, inoculé profondément dans la région rénale droite le 24 novembre 1902 après écrasement du rein. Cet animal tué le 19 avril 1903 présentait au point de l'inoculation la cicatrice des lésions inflammatoires produites par l'injection du microbe et le traumatisme du rein. L'ovaire et la trompe de Fallope du côté droit étaient adhérents et la trompe ordinairement très petite chez le rat, présentait sur une longueur de 12 millimètres un diamètre de 4 à 5 millimètres. Les coupes macroscopiques démontrèrent que la partie terminale était kystique et que la masse principale de la tumeur se trouvait constituée par un tissu analogue à celui d'un fibromyome de l'utérus.

Cette pièce est très intéressante parce qu'aucune lésion analogue n'a été observée sur la quantité énorme de rats témoins qui ont été sacrifiés et parce qu'elle s'était produite nettement au contact d'un point où le microbe avait produit une lésion inflammatoire suivie de cicatrice. Ce n'est donc pas en un point où le microbe a été injecté que cette lésion s'est produite, mais à une certaine distance de l'injection et dans un organe mobile qui est venu se fixer au point de l'inoculation par des adhérences inflammatoires.

5° *Néoformations conjonctives miliaires du foie et des poumons* (fig. 7 et 8). — Nous ne pouvons pas passer sous silence une autre lésion qui s'est produite chez un certain nombre d'animaux et avec des caractères toujours identiques.

En effet, la lésion que nous allons décrire a souvent coïncidé avec les lésions épithéliales ou les néoformations cartilagineuses de caractère néoplasique indiscutable, que nous décrirons plus loin. Les néoformations conjonctives miliaires du foie et du poumon peuvent se produire en très peu de jours. Le rat M inoculé dans le péritoine le 31 décembre 1904 avec une culture d'ostéo-

1. V. E. Doyen. *Etiologie et traitement du cancer*. 1904, figure 38.

sarcome datant de 7 jours est mort le 13 janvier 1905, soit treize jours après l'inoculation. Les rats Y et X inoculés le 25 mai 1905 avec une culture de 38 jours sont morts, le premier, neuf jours, le deuxième treize jours après l'inoculation. La même lésion a été observée sur les rats J, B2, E3, F4, K4, dont on retrouvera les dates d'inoculation et d'autopsie dans le tableau général. Chez ces rats M, Y et Z qui ont succombé moins de quinze jours après l'inoculation on observera en certains points de la périphérie du foie une périhépatite inflammatoire caractérisée par cette particularité que le tissu néoformé présente la structure d'un tissu conjonctif jeune dont un grand nombre de cellules sont remplies par le micrococcus neoformans.

On obtient des préparations très démonstratives en colorant par le carmin Gram ou le réactif de Giemsa. Les microbes sont d'autant plus nombreux qu'on se rapproche davantage de la date de l'inoculation.

Les coupes colorées par le picro-carmin et le violet phéniqué et traitées par la méthode de Gram (voir plus haut) montrent un grand nombre de cellules conjonctives néoformées et bourrées de cellules de micrococcus neoformans en voie de destruction phagocytaire; les microbes se détachant sur le fond rose en un violet bleu plus ou moins intense (Pl. V, fig. 9).

Sur les mêmes coupes, colorées par la méthode de Giemsa, le micrococcus neoformans apparaît coloré en rouge cerise, tandis que le fond est d'un bleu franc, ainsi que les autres microbes, s'il en existe, sur les coupes par exemple qui comprennent un fragment de l'estomac ou de l'intestin. Nous insistons sur cette particularité très remarquable, de la pénétration en masse du micrococcus neoformans dans le protoplasma des cellules conjonctives de nouvelle formation; certaines cellules en sont complètement bourrées. Cette réaction des cellules conjonctives vis-à-vis du micrococcus neoformans peut être considérée comme un caractère différentiel.

Il existe, en effet, très peu de microbes pathogènes ayant la propriété d'être des parasites intra-cellulaires.

Les cellules parasitées par le micrococcus neoformans dans les

foyers de périhépatite que nous sigalons contiennent un nombre bien plus considérable de cocci et de diplocoques que l'on n'observe de bacilles de Hansen dans les cellules lépreuses.

Si l'on examine non plus les foyers de périhépatite, mais le tissu parenchymateux du foie, on reconnaît qu'il est en partie dissocié par de petits foyers miliaires et très irrégulièrement disséminés de cellules conjonctives et que l'on rencontre en abondance dans ces foyers, lorsque la lésion est très jeune, le micrococcus neoformans.

On observe toujours un plus grand nombre de cocci dans les coupes colorées par le Giemsa. Cette particularité s'explique parce que sur les coupes colorées par le Gram, les cocci qui ont déjà subi un degré avancé de transformation phagocytaire ne demeurent pas colorés en violet.

Il est donc incontestable que cette lésion est bien due à l'action du micrococcus neoformans ; sur les pièces d'animaux morts un certain temps après l'inoculation on a beaucoup de peine à retrouver quelques cocci susceptibles d'être différenciés.

Il en est de même pour les tissus cancéreux chez l'homme et chez les animaux.

Chez la plupart de ces mêmes rats on observe dans le poumon des lésions analogues à celles du foie et qui ont l'aspect de petits nodules arrondis souvent confluents et faisant saillie dans les alvéoles pulmonaires.

Des nodules de structure identique se trouvent dans un certain nombre des ganglions lymphatiques correspondants.

Il est évident que ces lésions ne peuvent pas être considérées comme étant *certainement* des lésions néoplasiques et qu'il est facile de les critiquer en les rejetant purement et simplement au rang des lésions inflammatoires.

Nous répondrons que la plupart de ces noyaux miliaires sont constitués exclusivement par des cellules conjonctives et ne contiennent aucune trace de leucocytes polynucléaires. Ce serait donc là une inflammation bien spéciale que cette inflammation néoformatrice provoquant la multiplication et la prolifération

des seules cellules conjonctives sous forme de noyaux miliaires à caractère métastatique.

Cette lésion mérite d'être mentionnée, sans qu'il soit possible de lui donner actuellement une interprétation positive dans le sens néoplasique.

6° *Sarcome mélanique.* — Tout récemment, le 6 mars 1906, un certain nombre de souris et de rats ont été inoculés dans le péritoine avec une culture de 7 jours, provenant d'un noyau métastatique sous-cutané de sarcome mélanique opéré le 27 février, dont le foyer originel paraît être une tumeur englobant le maxillaire inférieur.

Cette culture a été mélangée avec des fragments de sarcome mélanique pilés et stériles, de manière à les injecter comme on l'aurait fait en ajoutant à la culture de l'encre de Chine ou une certaine quantité de pigments facilement reconnaissables au microscope.

Plusieurs souris sont mortes, la première et la seconde, E3 et F3 le 15 mars, c'est-à-dire 9 jours après l'inoculation, les deux autres, les souris J3 et K3 le 23 mars, c'est-à-dire 17 jours après l'inoculation.

Ces quatre souris ont présenté au voisinage de l'estomac et du pancréas, la souris F3 et K3 ayant un second foyer analogue au niveau du coecum, de petits abcès contenant une certaine quantité de pigments mélaniques et des cellules de micrococcus neoformans colorables par la méthode de Gram.

L'examen de ces petits foyers démontre notamment qu'ils ont été produits par le mélange des cultures de micrococcus neoformans et des pigments mélaniques mis en liberté par l'action du pilon sur des fragments de tumeurs stériles et macérés pendant 7 jours.

Mais il existait notamment chez la souris E3, au voisinage des foyers irritatifs déjà signalés des lésions très intéressantes et qui sont absolument analogues à des noyaux de sarcome mélanique. En effet dans ces petites tumeurs juxtaposées à l'estomac et au pancréas, qu'elles commencent à dissocier, on constate qu'il n'y a plus trace de leucocytes et de processus inflammatoire, à pro-

prement parler, mais qu'il s'agit d'un groupement très particulier de cellules conjonctives néoformées dont un grand nombre contiennent du pigment mélanique. Le pigment mélanique est particulièrement visible sur les coupes colorées au carmin. Si l'on fait sur ces coupes la coloration au violet phéniqué, par la méthode de Gram, on remarque alors que toutes les cellules conjonctives qui contiennent du pigment mélanique contiennent également à l'état de parasite intra-cellulaire, comme nous l'avons déjà signalé dans d'autres pièces expérimentales, le micrococcus neoformans.

D'autre part, la comparaison de ces néoplasies mélaniques expérimentales et du sarcome mélanique primitif de l'homme, montre que les cellules des néoplasies expérimentales de la souris sont beaucoup plus petites que les cellules du sarcome mélanique de l'homme et qu'il s'agit bien par conséquent d'une néoplasie formée aux dépens des cellules de la souris inoculée.

Sept autres souris sont mortes ou ont été tuées parce qu'elles étaient mourantes, de 25 à 40 jours après l'inoculation.

Chez celles de ces souris où les lésions ont été observées environ un mois après l'inoculation, il n'existait plus trace des petits foyers inflammatoires signalés chez les quatre premières et il est impossible de distinguer ces foyers mélaniques des tumeurs mélaniques spontanées telles qu'on les observe chez l'homme.

La souris P3 notamment présentait au voisinage de l'estomac et de la rate 3 foyers mélaniques distincts de 3 millimètres sur 2 millimètres 1/2 environ, ce qui, pour les souris, constitue des tumeurs appréciables.

Cette expérience qui sera répétée est très curieuse, parce qu'elle prouve que l'inoculation a produit chez ces souris des néoformations absolument analogues au sarcome mélanique spontané de l'homme et que la présence du pigment dans les cellules conjonctives de ces néoplasies est intimement liée à celle des cellules du micrococcus neoformans, encore colorables par la méthode de Gram, comme il arrive dans toutes les lésions datant de moins de 15 jours.

Il est impossible de dire si le pigment observé dans cette néoplasie expérimentale provient uniquement du pigment injecté dans le péritoine avec la culture de micrococcus neoformans. Cependant il est bien connu par l'observation des cas de généralisation de sarcome mélanique chez l'homme que des noyaux métastatiques de la peau, bien plus gros que les néoplasies expérimentales de la souris dont nous parlons, peuvent se former en moins de 9 jours.

Dans tous les cas, il est incontestable que ces néoplasies expérimentales de la souris démontrent un état spécial des cellules conjonctives néoformées qui, contrairement à tout ce qui est connu de leurs propriétés sont devenues à la fois des phagocytes pour le micrococcus neoformans et pour les corpuscules pigmentaires.

Le petit lobe cardiaque du poumon gauche de la souris J3 présente également des lésions qui paraissent être des métastases sarcomateuses.

7° *Néoformations cartilagineuses pulmonaires.* — Il nous reste à décrire, parmi les néoformations conjonctives *des noyaux d'enchondrome miliaire*, qui ont été observées chez 10 des rats en expérience. Ces lésions cartilagineuses ne se sont jamais présentées à l'état isolé. Elles étaient, sans exception, juxtaposées à des néoformations épithéliales. Ces dernières existant seules chez beaucoup d'animaux inoculés, nous devons les décrire avant les lésions cartilagineuses, qui seront étudiées dans un 3e paragraphe, celui des lésions mixtes.

Lésions épithéliales.

Ces lésions se produisent particulièrement dans le poumon, après l'inoculation intrapéritonéale du micrococcus neoformans. Nous décrirons les lésions épithéliales expérimentales du poumon avec tout le développement qu'elles comportent, parce qu'elles ont été reproduites chez un grand nombre d'animaux.

Nous ne pouvons pas cependant passer sous silence un cas

tout à fait démonstratif de production dans la mamelle chez une guenon, trois mois après une injection locale d'un adénome kystique, identique aux adénomes kystiques spontanés du sein chez la femme. Dans ce cas, la présence du micrococcus neoformans a été vérifiée par la culture du néoplasme expérimental où il existait à l'état de pureté.

Les injections dans la glande mammaire chez les petits animaux ne donnent habituellement pas de résultat, probablement parce que le microbe y est introduit en masse et à un état où il n'est pas prêt à exciter la prolifération cellulaire. On remarquera, en effet, dans les expériences qui suivent que les néoplasies expérimentales ne se produisent pas au lieu d'inoculation mais à une certaine distance, en des points où le microbe ne peut arriver que déjà modifié et peut-être même sélectionné au cours de sa migration dans les voies lymphatiques.

Nous avons signalé plus haut que les lésions épithéliales les plus intéressantes ont été observées dans les poumons après inoculation intra-péritonéale.

Il est très remarquable qu'il n'existe le plus souvent dans le péritoine, comme vestige de l'injection microbienne que des adhérences filamenteuses. Les fragments de tissus morts qui ont été injectés dans un certain nombre d'expériences avec les cultures de micrococcus neoformans ont en général complètement disparu ou bien se retrouvent enkystés, dans un repli épiplooïque. Il n'existe d'inflammation péritonéale manifeste que dans les cas où il y a eu infection par d'autres microbes, notamment par le staphylocoque doré. On peut alors trouver des abcès enkystés dont le siège est très variable.

Le microbe pathogène disparaît habituellement de la cavité péritonéale au bout de 10 à 15 jours au maximum. Mais il a pénétré dans les voies lymphatiques et vient manifester son action pathogène tout particulièrement dans les poumons. Cette localisation pulmonaire du micrococcus neoformans ne peut nous étonner, puisque des faits semblables ont été observés par divers expérimentateurs, notamment par Calmette de Lille dans ses recherches sur la tuberculose et par ses élèves Vansteen-

berghe et Grysez dans leurs expériences sur l'origine intestinale de l'anthracose pulmonaire.

Calmette et Guérin (1) ont démontré par leurs expériences, que, loin d'être provoquée habituellement par l'inhalation de bacilles virulents, la tuberculose pulmonaire se produisait le plus souvent à la suite de la pénétration des bacilles de Koch au travers de la muqueuse digestive.

Vansteenberghe et Grysez (2), injectant des substances pulvérulentes (noir de fumée, etc.) soit dans l'estomac, soit dans le péritoine du cobaye, ont démontré que ces substances pulvérulentes avaient une tendance extraordinaire à gagner le poumon et même à se localiser exclusivement dans cet organe, sans qu'on puisse en trouver trace dans les ganglions lymphatiques de la cavité abdominale.

Ces citations n'étaient pas inutiles pour démontrer que les lésions pulmonaires obtenues chez les animaux après l'inoculation intra-péritonéale du micrococcus neoformans rentrent dans le cadre de faits d'observation connus.

Les lésions épithéliales produites par le micrococcus neoformans dans le poumon sont de trois types bien distincts :

1° *Adénome bronchique.* — On observe presque sans exception chez les animaux qui succombent moins de deux mois après l'inoculation, une hypertrophie remarquable de l'épithélium de revêtement des bronchioles terminales.

Les végétations épithéliales affectent l'aspect de papillomes bronchiques et se trouvent quelquefois développées à ce point qu'on observe de ces grandes cavités tapissées de ces épithéliums et comprimant les alvéoles pulmonaires voisins qui se trouvent aplatis et affaissés.

Chez la souris F, inoculée le 4 décembre 1904 avec une culture de 2 mois 1/2 et tuée le 11 février 1905, ces papillomes

1. Calmette et Guérin. « Origine intestinale de la tuberculose pulmonaire ». *Ann. Institut Pasteur*, oct. 1905.

2. Vansteenberghe et Grysez. « Sur l'origine intestinale de l'anthracose pulmonaire ». *Ann. Institut Pasteur*, 25 décembre 1905.

bronchiques ont acquis un développement considérable et il existe en un point du poumon un nodule d'adénome à cellules cubiques présentant tous les caractères d'une végétation néoplasique et ayant détruit une partie du poumon.

Des lésions identiques de papillome bronchique et de petites productions adénomateuses s'observent chez un certain nombre de rats.

2° *Epithélioma péri-bronchique* (Pl. VII, fig. 13 et 14). — Lorsque les lésions sont plus accentuées, on remarque qu'elles ont toujours une tendance remarquable à se grouper autour de bronchioles et à former des nodules péribronchiques confluents, dont le volume peut être assez considérable pour aplatir complètement les alvéoles pulmonaires ambiants et pour effacer leur calibre.

Si on examine une préparation typique d'épithélioma péribronchique chez le rat blanc, on remarque que l'épithélium de la bronche est généralement atteint de végétations papillaires comme il est indiqué plus haut. Souvent il conserve son caractère cylindrique ; parfois il est transformé en épithélium pavimenteux stratifié. La cavité de la bronche, dilatée et déformée, contient fréquemment des amas de leucocytes polynucléaires mortifiés.

L'espace conjonctif péri-bronchique est creusé de petites cavités remplies de cellules cubiques. L'origine de ces néoformations épithéliales paraît très obscure à un premier examen.

M. Letulle notamment, avait pensé qu'il s'agissait là d'une transformation cubique de l'épithélium des alvéoles pulmonaires les plus rapprochés des bronches, comme on l'observe dans les pièces de pneumonie chronique. L'examen des coupes en série a démontré que cette interprétation ne pouvait pas être acceptée. En effet, si l'on examine successivement les coupes démonstratives provenant de plusieurs cas où la lésion se trouve à des stades différents de son évolution, on observe les particularités suivantes :

Tout au début, il y a accumulation de petites cellules rondes dans les espaces péri-bronchiques, pendant que l'épithélium

des bronches ainsi irritées, prolifère et forme des végétations papillaires. On voit alors cet épithélium se multiplier dans la profondeur sous forme de petites cellules cubiques, qui se creusent de petits alvéoles dans le tissu péri-bronchique.

Le premier stade de la formation des lésions d'épithélioma péri-bronchique est très remarquable sur les coupes du rat P2 et du rat U. Chez ce dernier, on voit les petites alvéoles épithéliaux se former tout d'abord dans les bronchioles d'un certain calibre, entre l'épithélium de revêtement et le muscle de Reissessen. Cet anneau musculaire se trouve coupé en différents points par suite de cette prolifération épithéliale et l'on voit les mêmes petits alvéoles épithéliaux qui s'étaient formés en dedans du muscle de Reïssessen, dissocier l'anneau musculeux et s'infiltrer et se multiplier dans l'espace conjonctif péri-bronchique (Pl. VII, fig. 14).

Si l'on étudie cette lésion sur un grand nombre de pièces, il est facile de constater que les alvéoles pulmonaires ne prennent aucune part à la formation de ces cavités épithéliales, mais qu'au contraire, ils se trouvent simplement aplatis et rejetés à la périphérie des nodules épithéliaux péri-bronchiques. Les préparations à l'orcéine ne laissent aucun doute à ce sujet et montrent que le centre des nodules péri-bronchiques creusés d'alvéoles épithéliaux ne présente aucune trace des fibres élastiques si caractéristiques qui forment le squelette des alvéoles pulmonaires.

La coloration du tissu fibreux par la fuschine acide de Van Gieson est également démonstrative. En effet, on constate sur lescoupes ainsi colorées que les alvéoles éphithéliaux néoformés qui distendent les espaces péri-bronchiques ont dissocié leur squelette fibreux et sont entremêlés de faisceaux conjonctifs colorés en rouge vif. Or, sur les coupes de poumons moins altérés on constate que le réactif de Van Gieson ne colore aucun élément fibreux de cette importance dans la trame des alvéoles pulmonaires, tandis que les faisceaux conjonctifs abondent autour des bronchioles d'un certain calibre.

Une autre objection de M. Letulle qu'il s'opérait dans les

espaces péribronchiques de simples dilatations des vaisseaux lymphatiques bourrés de petites cellules libres dans leur cavité, tombe encore par ce fait que l'examen des coupes en séries ne montre pas de vaisseaux lymphatiques en pareil nombre autour des petites bronches.

L'infiltration embryonnaire forme au contraire de toutes pièces l'épaississement péribronchique dissociant le tissu fibreux péribronchique et les fibres élastiques du squelette de la bronche, et c'est dans ce tissu néoformé que se produisent les alvéoles épithéliaux à petites cellules que nous avons décrit.

Nous avons donc à enregistrer chez les rats en expérience, la fréquence de la formation de foyers d'épithélomia péri-bronchique, susceptible de détruire une grande partie du poumon en prenant une extension de caractère néoplasique.

3° *Epithélioma cylindrique disséminé* (Pl. V, fig. 10 ; Pl. VI, fig. 11 et 12). — Le troisième type de lésion est plus caractéristique encore et ne laisse guère matière à la discussion. En effet, si on examine des pièces où cette lésion se présente en quelque sorte à l'état exclusif, on constate, par exemple, sur les rats H3 et F4, que des lobes pulmonaires entiers sont creusés d'énormes alvéoles irréguliers tapissés d'une ou plusieurs couches de cellules cylindriques, comme on l'observe dans l'épithélioma cylindrique spontané chez l'homme.

M. le Professeur Cornil, répondant à la communication de M. Doyen à la Société anatomique le 9 mars dernier, a conclu que ces lésions pulmonaires expérimentales étaient tout à fait analogues aux lésions du cancer cylindrique chez l'homme.

Il s'est donc produit chez ces animaux des foyers multiples et simultanés d'épithélioma cylindrique affectant le caractère métastatique et qui ont déterminé la destruction partielle du tissu pulmonaire.

Le caractère néoplasique de ces néoformations est évident et se trouve caractérisé surtout par l'irrégularité des alvéoles, par leurs végétations papillaires, et enfin par la formation dans un certain nombre d'éntre eux d'alvéoles secondaires entourés eux-mêmes d'une couche de cellules cylindriques, comme on les

observe en pathologie humaine dans le cancer spontané du rectum et de l'ovaire (fig. 12).

Il est facile, en étudiant les coupes avec soin, de surprendre le premier stade de ces néoformations épithéliales cylindriques. Elles débutent sans exception au voisinage de petits amas embryonnaires et sous forme d'une corolle ouverte, qui s'étend petit à petit, détruisant les tissus du voisinage. Cette prolifération des épithéliums cylindriques peut atteindre un degré suffisant pour amener la destruction du tiers ou de la moitié des lobes pulmonaires envahis.

On remarquera, en étudiant les coupes du rat F4 que plusieurs grands alvéoles sont revêtus non plus d'épithélium cylindrique, mais d'épithélium pavimenteux stratifié très aplati, et contiennent des vestiges de formations se rapprochant des globes épidermiques. Cette particularité rentre encore dans les faits connus puisqu'il a été publié des observations d'épithélioma pavimenteux primitif du poumon à globes épidermiques (Ménétrier).

Nous avons déjà signalé que les lésions épithéliales décrites ci-dessus se rencontrent, à un degré plus ou moins accentué, chez la grande majorité des rats inoculés. Par exemple, dans les quatre dernières séries d'inoculations, dont on trouvera le détail dans les tableaux annexés à ce travail, sur 45 animaux ayant survécu plus de deux mois, 25 ont présenté des lésions épithéliales. Nous allons voir que chez 10 de ces animaux il s'est produit, en même temps que les lésions épithéliales, des foyers disséminés d'enchondrome pulmonaire.

Lésions mixtes. — Chondro-épithéliome du poumon.

Le premier cas d'enchondrome expérimental du poumon observé par M. Doyen est celui du rat P, inoculé le 16 mars 1905 avec une culture de un mois, tué le 11 mai 1905.

L'autopsie a été faite devant le Dr Ryall de Londres. Tout le bord d'un lobe pulmonaire était entièrement transformé en un tissu blanc-bleuâtre transparent à la lumière directe, et présen-

tant tous les caractères macroscopiques du tissu cartilagineux. Les coupes microscopiques démontrèrent l'exactitude du diagnostic macroscopique. Cette lésion s'est reproduite chez plusieurs animaux de la même expérience et des séries ultérieures. L'un des cas les plus démonstratits est celui dont la pièce macroscopique est représentée Plauche II, fig. 3 et 3 *bis*.

Cette pièce a été présentée à la Société anatomique le 19 janvier dernier.

Le poumon droit était parsemé de noyaux cartilagineux blanc-bleuâtres d'une consistance ferme au toucher, transparents à la lumière directe et présentant tout les caractères macroscopiques bien connus des métastases cartilagineuses si fréquentes chez le chien. Outre les noyaux miliaires superficiels disséminés, tout un bord du poumon était entièrement transformé en tissu cartilagineux.

Chez les 8 autres rats qui présentèrent des lésions analogues, il existait soit des noyaux cartilagineux, miliaires, soit des plaques cartilagineuses en voie de formation à la surface des poumons.

L'examen histologique de ces pièces présentait un grand intérêt. Les coupes colorées à l'hématéine forte, à l'hématoxyline, à la thionine, à la fuschine acide de Van Gieson, à l'orcéine démontrèrent très nettement qu'au niveau des noyaux cartilagineux les mieux formés, il n'existait plus aucune trace des fibres élastiques du squelette alvéolaire.

Les capsules cartilagineuses ne s'observent qu'en des points bien limités, mais nous ferons observer la rapidité de formation de cette lésion qui a tué les animaux deux ou trois mois seulement après l'inoculation. Ces néoformations cartilagineuses présentent, en beaucoup de points, en raison de leur formation récente les caractères du cartilage embryonnaire, c'est-à-dire que la substance fondamentale n'a pas une consistance très ferme et que les capsules des cartilages sont encore en voie de formation.

La présentation de ces pièces à la Société anatomique a donné lieu les 26 mai, 2 juin, 16 juin 1905 à une discussion très inté-

ressante à laquelle ont pris part notamment MM. Cornil, Letulle, Brault, et Petit d'Alfort.

Le 26 mai, MM. Letulle et Brault émirent l'opinion que les points considérés par M. Doyen comme du cartilage étaient de simples exsudats mucoïdes. Ils se basaient pour soutenir cette hypothèse, sur cette particularité, que la substance considérée par M. Doyen comme cartilagineuse remplissait en partie un certain nombre d'alvéoles et de bronchioles dilatées. M. Cornil résumant la discussion conclut que pour lui, il s'agissait bien de cartilage.

Cette discussion fut reprise les 2 juin et 16 juin 1905. M. Doyen démontra d'abord par ses photographies microscopiques et par de nouvelles colorations plus intenses que les premières, l'existence de capsules cartilagineuses indiscutables.

Un seul point demeurait obscur : la constatation dans des cavités alvéolaires et dans certaines bronchioles d'une substance analogue à celle que M. Doyen et M. Cornil considéraient comme du cartilage.

Cette question fut résolue dans la séance du 19 janvier 1906 par la présentation de nouvelles pièces : l'une, un enchondrome spontané de la parotide chez l'homme, l'autre, un cas d'enchondrome métastatique mortel du poumon chez le chien.

En effet, on constate, dans ces deux pièces, que le mode de formation de la substance cartilagineuse pathologique est identique à ce que l'on observe dans les pièces expérimentales de M. Doyen.

Dans l'enchondrome de la parotide de l'homme, on voit un tissu lâche s'infiltrer d'une sorte d'exsudat colloïde qui le dissocie en alvéoles susceptibles d'en imposer en certains points pour des alvéoles pulmonaires. Il semblerait qu'on ait injecté dans ce tissu une colle transparente très épaisse qui se diffuse lentement, en laissant çà et là de petites cavités. On reconnaît notamment sur des coupes que les capsules cartilagineuses se forment secondairement à la substance fondamentale hyaline, et seulement dans les points où celle-ci commence à se condenser.

Cette pièce démontre donc, qu'au début de la formation du

cartilage pathologique, les tissus intéressés secrètent une substance colloïde qui les infiltre de proche en proche, et devient en se condensant la substance fondamentale du cartilage où se forment alors les capsules caractéristiques.

Les pièces d'enchondrome métastatique du poumon du chien présentent les mêmes particularités. Ces pièces ont été données à M. Doyen par M. Borrel, et provenaient d'un poumon de chien criblé de métastases cartilagineuses dont l'origine était indéterminée, le poumon seul ayant été envoyé au laboratoire.

Les métastases cartilagineuses étaient caractérisées par la présence d'une grande quantité de tissu fibreux et de nombreux noyaux calcifiés. Il s'agissait donc d'une lésion à évolution lente, comme il arrive si fréquemment chez le chien. Mais en étudiant la zône d'accroissement de ces noyaux d'enchondrome, il fut aisé de démontrer que l'extension de cette lésion cartilagineuse se produisait chez le chien d'une manière identique à ce qui a été décrit plus haut dans le poumon du rat et la parotide de l'homme. On observe, en effet, qu'à la limite des noyaux fibro-cartilagineux, les alvéoles pulmonaires et même certains vaisseaux sont remplis partiellement par la même matière colloïde que nous avons décrite chez le rat.

M. Petit d'Alfort avait d'ailleurs fait remarquer le 26 mai 1905 en présentant une pièce analogue, que l'enchondrome métastatique du poumon est fréquent chez le chien et présente chez cet animal tous les caractères d'une tumeur maligne.

Le point d'origine, dans le cas présenté par M. Petit, était un sarcome de l'intestin présentant en certains points la transformation cartilagineuse.

M. Petit émettait l'opinion que des cellules sarcomateuses avaient cheminé jusque dans le poumon pour y végéter sous forme de noyaux primitivement sarcomateux et que ces noyaux sarcomateux avaient subi secondairement dans le poumon l'évolution cartilagineuse.

Cette observation mérite d'être citée parce qu'elle est en concordance absolue avec les faits expérimentaux observés par M. Doyen. En effet si, dans les foyers d'enchondrome miliaire

expérimental du poumon du rat, on étudie le processus de formation du cartilage, on constate qu'il se forme d'abord des foyers nodulaires constitués par de petites cellules rondes, d'aspect sarcomateux, ou en d'autres points par des cellules analogues aux cellules d'un myxome. Ces foyers nodulaires détruisent le parenchyme pulmonaire, et c'est autour d'eux que se forme, par une sorte de sécrétion cellulaire, la substance fondamentale du cartilage.

Cette substance prend naissance sous l'aspect d'une substance colloïde très épaisse et qui pénètre de proche en proche, envahissant également les alvéoles pulmonaires, les bronchioles et les vaisseaux, qu'elle détruit ensuite.

Il s'agit donc bien chez le rat blanc inoculé avec le micrococcus neoformans et chez le chien atteint d'enchondrome métastatique malin du poumon, d'un processus néoplasique identique.

Les objections primitives de M. Letulle et Brault ont cédé devant la présentation de ces pièces comparatives.

Il est donc bien démontré que l'inoculation intra-péritonéale du micrococcus neoformans au rat blanc est susceptible de provoquer, chez un certain nombre des animaux en expérience, l'évolution d'enchondromes miliaires malins des poumons, déterminant la mort de l'animal et identiques aux enchondromes métastatiques bien connus du poumon du chien, qui présentent chez cet animal l'évolution des tumeurs malignes.

Nous n'avons pas parlé jusqu'ici de la coexistence avec ces enchondromes, des lésions épithéliales déjà décrites parce que nous avions tout d'abord à préciser et à déterminer l'existence des enchondromes expérimentaux. Or, M. Doyen n'a jamais observé ces enchondromes expérimentaux à l'état exclusif, et, sans exception, les poumons des rats inoculés et atteints d'enchondromes présentent, à un degré plus ou moins accentué, les lésions épithéliales qui ont été décrites plus haut. Comme le développement des enchondromes dérive d'une néoformation conjonctive, il s'ensuit que, chez un certain nombre des animaux en expérience, l'inoculation du micrococcus neoformans produit

la formation simultanée et la juxtaposition de lésions néoplasiques *d'origine mésodermique* et *d'origine épithéliale.*

Nous ajouterons que cette juxtaposition de lésions néoplasiques épithéliales et d'origine mésodermique s'observe également dans les enchondromes métastatiques spontanés du chien que nous venons de décrire. En effet, on constate sur les coupes de la pièce provenant du laboratoire de M. Borrel, des lésions irritatives et néoformatrices très accentuées de l'épithélium des petites bronches, avec formation de végétations épithéliales papillaires dans la cavité de ces bronches et d'alvéoles épithéliaux nettement néoplasiques dans les espaces conjonctifs péribronchiques.

Personne ne contestera ici, puisqu'il s'agit d'un cancer spontané, la malignité de ces lésions.

Il y a donc concordance absolue entre ces lésions expérimentales de chondro-épithéliome miliaire du poumon du rat et les lésions de chondro-épithéliome spontané du poumon de chien.

Adénopathies secondaires.

Nous avons laissé pour la fin de notre description les adénopathies secondaires parce que leur caractère néoplasique n'est peut-être pas suffisamment établi. Il n'en est pas moins démontré par de nombreuses coupes histologiques, que chez presque tous les rats atteints de lésions d'épithélioma péri-bronchique à petits alvéoles qui sont décrites plus haut, on observe, dans un certain nombre de ganglions thoraciques, des foyers confluents de grosses cellules claires à noyau elliptique qui désorganisent complètement le follicule en se substituant au tissu lymphatique (Planche VIII, fig. 15 et 16).

Il est impossible d'admettre que ces amas de cellules soient des centres germinatifs. En effet ils sont disséminés aussi bien dans toute l'épaisseur des follicules lymphatiques, qui se trouvent dissociés et détruits par eux que dans la substance médullaire. Dautre part, l'agglomération de ces cellules pathologiques est tout à fait analogue à ce que l'on observe au début de

l'infiltration épithéliale des ganglions lymphatiques chez l'homme.

*
* *

Si nous relevons les inoculations du 16 mars, du 25 mai, du 1er juillet et du 25 octobre 1905, nous constatons que ces expériences ont donné des résultats fort satisfaisants chez un grand nombre d'animaux, en effet, sur 94 rats autopsiés et examinés histologiquement, dont le premier est le rat J et le dernier le rat L4, nous avons observé 47 cas de lésions dignes d'être notées, soit 50 0/0.

Chez tous ces rats, sans exception, il existait à différents degrés des lésions épithéliales : adénomes bronchiques, épithélioma péri-bronchique à petites cellules cubiques, épithélioma cylindrique.

Chez onze de ces animaux, il existait des néoformations cartilagineuses.

Chez sept, des lésions miliaires du foie ou des poumons.

Chez sept, des lésions ganglionnaires, caractérisées car des amas de cellules très analogues à des embolies néoplasiques.

Nous avons décrit les lésions les plus intéressantes.

Le tableau des cas positifs de ces quatre séries d'inoculations tend à démontrer qu'il est possible d'obtenir des résultats positifs avec des cultures de 30, de 33 ou de 38 jours, pures ou additionnées de cultures de microbes plus anciens.

Il paraît cependant préférable d'inoculer des cultures jeunes de 6 ou 8 jours, comme nous l'avons signalé dans le chap. II.

On peut réinoculer tous les 15 jours ou tous les mois les rats survivants en injectant pour ces réinoculations une plus petite quantité de culture : 1 cmc. 1/2 à 2 cmc. par exemple, de façon à perdre moins d'animaux des suites immédiates du traumatisme de l'inoculation, ou il arrive par exemple de blesser l'intestin.

Nous devons faire cette remarque : pour la production de néoplasies expérimentales plus encore que pour l'inoculation des microbes pathogènes connus il est à peu près impossible de

réaliser expérimentalement le mode d'infection d'ailleurs inconnu qui aboutit à la formation des tumeurs.

D'ailleurs il existe cette différence essentielle entre l'évolution spontanée du cancer et les conditions habituelles des expériences par inoculation de cultures pures, que dans l'évolution spontanée le point de départ paraît être provoqué par l'action d'un très petit nombre de microbes, tandis que les inoculations se font presque toujours à doses massives, afin de diminuer plus sûrement la résistance de l'animal inoculé.

C'est pourquoi on peut penser que dans les expériences citées ci-dessus ces inoculations à doses massives produisent d'emblée des métastases pulmonaires disséminées sans qu'il y ait comme point de départ une lésion locale primitive. C'est une infection diffuse et une généralisation d'emblée comme on l'observe d'ailleurs dans la granulie tuberculeuse ou dans certains cas de généralisation sarcomateuse d'emblée où il est impossible de démontrer l'existence d'un foyer primitif.

Ici encore les faits relatés dans les expériences chez le rat ne sont pas en contradiction avec les observations de la pathologie courante.

INOCULATIONS DU 16 MARS 1905

Injection dans le péritoine d'une culture de un mois avec fragment de tissus pilés et passés au tamis. 2 à 3 cmc.

	ayant survécu	Lésions épithé-liales	Lésions cartilagi-neuses	Lésions miliaires du foie et poumon	Lésions ganglion-naires
1° Rat J	17 jours.	X	X	X f. p.	
2 — P	57 —	X	X		
3 — Q	59 —	X			
4 — U	72 —	X			X
5 — G2	3 mois 1/2.	X	X		
6 — T2	»	X	X		
7 — M2	»	X			X
8 — O2	4 »	X			X
9 — P2	»	X			
10 — Q2	»	X			X
11 — R2	»	X			
12 — S2	»	X			
13 — T2	»	X	X		
14 — B3	4 mois et 20 jours.	X			
15 — D3	5 mois et 24 jours.	X			

INOCULATIONS DU 25 MAI 1905

Injections comme plus haut (intra-péritonéales) avec des cultures de 38 jours.

			ayant survécu	Lésions épithéliales	Lésions cartilagineuses	Lésions miliaires du foie et poumon	Lésions ganglionnaires
16	Rat	V	5 jours.	œdème aigu péri-bronchiq.			
17	—	Y	9 —	X		X f.	
18	—	Z	13 —	X		X f.	
19	—	B2	27 —	X		X f.	
20	—	U2	2 mois 1/2.	X			
21	—	V2	»	X			
22	—	Y2	2 mois et 25 jours.	X	X		X
23	—	C3	3 mois et 15 jours.	X			
24	—	E3	3 mois et 20 jours.	X		X f.	
25	—	J3	3 mois et 20 jours.	X	X		
26	—	K3	3 mois et 20 jours.	X			

INOCULATIONS DU 1er JUILLET 1905.

Injections intra-péritonéales comme plus haut avec des cultures de 33 jours.

27	Rat.	F3	2 mois 1/2.	X			
28	—	H3	»	X			
29	—	I3	»	X	X		

INOCULATIONS DU 25 OCTOBRE 1905

Injections intra-péritonéales comme plus haut avec des cultures de 14 jours.

Les survivants ont été de nouveau inoculés le 6 novembre, et les nouveaux survivants le 5 mars (cultures jeunes).

			ayant survécu	Lésions épithéliales	Lésions cartilagineuses	Lésions miliaires du foie et poumon	Lésions ganglionnaires
30	Rat	Y3	68 jours.	X	X		
31	—	Z3	2 mois 1/2.	X	X		
32	—	E4	3 mois et 20 jours.	X	X		
33	—	F4	3 mois et 20 jours.	X		X f.	
34	—	G4	4 mois.	X			
35	—	H4	4 mois et 11 jours.	X			
36	—	I4	4 mois et 11 jours.	X			
37	—	J4	4 mois et 12 jours.	X	X		
38	—	K4	4 mois et 17 jours.	X		X f.	X
39	—	L4	4 mois et 19 jours.	X			
40	—	M4	4 mois et 19 jours.	X			
41	—	O4	4 mois et 26 jours.	X			X
42	—	P4	4 mois et 28 jours.	X			
43	—	R4	5 mois et 3 jours.	X	X		
44	—	T4	5 mois et 11 jours.	X			
45	—	X4	5 mois et 21 jours.	X			
46	—	Z4	5 mois et 22 jours.	X			
47	—	C5	5 mois et 27 jours.	X			

CONCLUSIONS

1° Le micrococcus neoformans, parasite des néoplasmes, est doué de propriétés pathogènes indiscutables.

2° L'inoculation de cultures pures étudiée spécialement sur la souris blanche et sur le rat blanc, détermine au bout de deux à quatre mois, chez un grand nombre de sujets en expérience, la production de lésions de caractère néoplasique, qui aboutissent à la mort de l'animal.

3° L'inoculation de la même culture, faite le même jour à différents de ces animaux peut déterminer aussi bien la production de néoplasies d'origine mésodermique que de néoplasies d'origine épithéliale, soit isolées, soit le plus souvent associées. D'ailleurs, la coexistence des lésions du sarcome et de l'épithéliome est loin d'être un fait exceptionnel dans les néoplasmes spontanés de l'homme et des animaux.

4° Parmi les néoformations d'origine mésodermique, on observe le lipome circonscrit ou arborescent, diverses proliférations conjonctives, notamment des noyaux miliaires d'aspect sarcomateux, disséminés dans le foie et les poumons, enfin une production, soit lobulaire, soit sous forme de nodules miliaires disséminés, de foyers d'enchondrome malin du poumon.

5° Parmi les néoformations d'origine épithéliale on observe, soit des adénomes ou des papillomes, particulièrement au niveau des petites bronches, chez la souris et le rat blanc, soit chez ce

dernier des foyers disséminés d'épithélioma péri-bronchique à petites cellules cubiques, ou bien un envahissement du poumon par des lésions d'épithélioma cylindrique identiques au cancer cylindrique du rectum ou de l'ovaire dans l'espèce humaine.

6° La juxtaposition de ces lésions néoplasiques d'origine mésodermique et d'origine épithéliale chez un grand nombre des animaux en expérience démontre l'unité étiologique du processus néoplasique, déjà indiquée par la constatation d'une seule et même espèce bactérienne dans les tumeurs d'origine mésodermique et dans les tumeurs d'origine épithéliale, et par les cas bien connus de juxtaposition du sarcome et de l'épithéliome dans certaines tumeurs spontanées de l'homme et des animaux.

VU :
Le Président de la thèse,
CORNIL.

VU :
Le Doyen,
DEBOVE.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,
LIARD.

IMPRIMERIE SPÉCIALE DE LA LIBRAIRIE G. JACQUES, PARIS.

LÉGENDES DES PLANCHES

Figure 1 — Lipome arborescent péritonéal de la souris. On voit au point où plonge le rectum la bifurcation de l'utérus. Le pubis est situé à environ cinq millimètres plus bas.

Figure 2 — Coupe d'un fragment de ce lipome arborescent expérimental montrant que le tissu adipeux s'implante directement sur le tissu propre de l'ovaire. *Souris B,* Grossissement : 240.

Figure 3 et 3 bis — Néoplasies cartilagineuses du poumon droit du rat. Pièce macroscopique grossie dans la proportion du 7/4.

Figure 4 — Enchondrome du poumon chez le rat blanc. A gauche de la coupe on voit que le tissu pulmonaire est remplacé par du tissu d'aspect sarcomateux. A droite on distingue la plèvre. *Rat T 2,* Grossissement : 160.

Figure 5 — Enchondrome du poumon du rat. On distingue à droite la coupe de la plèvre. Il n'y a presque plus trace du squelette des alvéoles. *Rat P 5,* Grossissement : 160.

Figure 6 — Enchondrome expérimental du poumon du rat. Extrêmité d'un lobe pulmonaire dégénéré. On distingue au bord droit de la coupe la plèvre viscérale. *Rat P 5,* Grossissement : 160.

Figure 7 — Foyers sarcomateux miliaires du foie chez le rat, quinze jours après une inoculation de culture virulente provenant d'un ostéosarcome du fémur. *Rat Z,* Grossissement : 200.

Figure 8 — Même coupe. Grossissement : 360.

Figure 9 — Même pièce montrant le parasitisme intracellulaire des foyers de néoformation. Les cellules sont bourrées de Micrococcus neoformans. Grossissement : 1060.

Figure 10 — Epithélioma cylindrique expérimental du poumon chez le rat blanc. Grossissement : 30.

Figure 11 — Epithélioma cylindrique expérimental du poumon du rat blanc. Grossissement : 130.

Figure 12 — Même lésion. Grossissement : 170.

Figure 13 — Epilhélioma péribronchique et expérimental à petites cellules envahissant le tissu adipeux du hile du poumon. *Rat P 4,* Grossissement : 130.

Figure 14 — Epithélioma péribronchique expérimental à petits alvéoles montrant la formation de ces alvéoles entre l'épilthélium cylindrique de la bronche et le muscle de Reïssessen, et d'alvéoles identiques en dehors de l'anneau musculeux. *Rat O 3,* Grossissement : 270.

Figure 15 — Lésions d'un ganglion thoracique dans un cas d'épithélioma péribronchique expérimental. *Rat F 4,* Grossissement : 160.

Figure 16 — Même coupe. Grossissement : 360.

LÉGENDES DES PLANCHES

Figure 1 — Lipome arborescent péritonéal de la souris. On voit au point où plonge le rectum la bifurcation de l'utérus. Le pubis est situé à environ cinq millimètres plus bas.

Figure 2 — Coupe d'un fragment de ce lipome arborescent expérimental montrant que le tissu adipeux s'implante directement sur le tissu propre de l'ovaire. *Souris B*, Grossissement : 240.

Figure 3 et 3 bis — Néoplasies cartilagineuses du poumon droit du rat. Pièce macroscopique grossie dans la proportion du 7/4.

Figure 4 — Enchondrome du poumon chez le rat blanc. A gauche de la coupe on voit que le tissu pulmonaire est remplacé par du tissu d'aspect sarcomateux. A droite on distingue la plèvre. *Rat T 2*, Grossissement : 160.

Figure 5 — Enchondrome du poumon du rat. On distingue à droite la coupe de la plèvre. Il n'y a presque plus trace du squelette des alvéoles. *Rat P 5*, Grossissement : 160.

Figure 6 — Enchondrome expérimental du poumon du rat. Extrémité d'un lobe pulmonaire dégénéré. On distingue au bord droit de la coupe la plèvre viscérale. *Rat P 5*, Grossissement : 160.

Figure 7 — Foyers sarcomateux miliaires du foie chez le rat, quinze jours après une inoculation de culture virulente provenant d'un ostéosarcome du fémur. *Rat Z*, Grossissement : 200.

Figure 8 — Même coupe. Grossissement : 360.

Figure 9 — Même pièce montrant le parasitisme intracellulaire des foyers de néoformation. Les cellules sont bourrées de Micrococcus neoformans. Grossissement : 1060.

Figure 10 — Epithélioma cylindrique expérimental du poumon chez le rat blanc. Grossissement : 30.

Figure 11 — Epithélioma cylindrique expérimental du poumon du rat blanc. Grossissement : 130.

Figure 12 — Même lésion. Grossissement : 170.

Figure 13 — Epithélioma péribronchique et expérimental à petites cellules envahissant le tissu adipeux du hile du poumon. *Rat P 4*, Grossissement : 130.

Figure 14 — Epithélioma péribronchique expérimental à petits alvéoles montrant la formation de ces alvéoles entre l'épithélium cylindrique de la bronche et le muscle de Reissessen, et d'alvéoles identiques en dehors de l'anneau musculeux. *Rat O 3*, Grossissement : 270.

Figure 15 — Lésions d'un ganglion thoracique dans un cas d'épithélioma péribronchique expérimental. *Rat F 4*, Grossissement : 160.

Figure 16 — Même coupe. Grossissement : 360.



Fig. 1

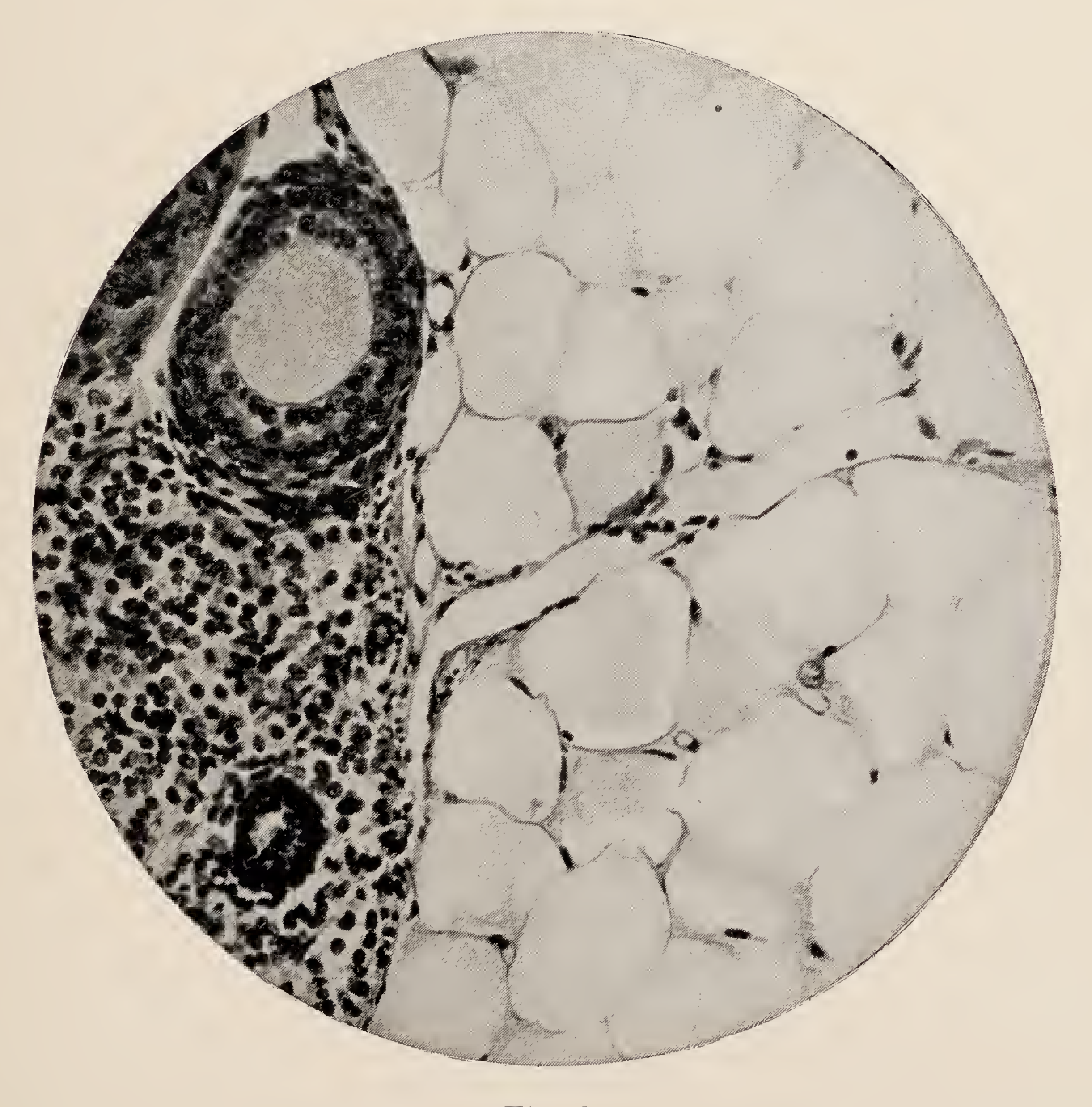


Fig. 2



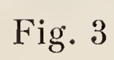


Fig. 3



Fig. 3 bis

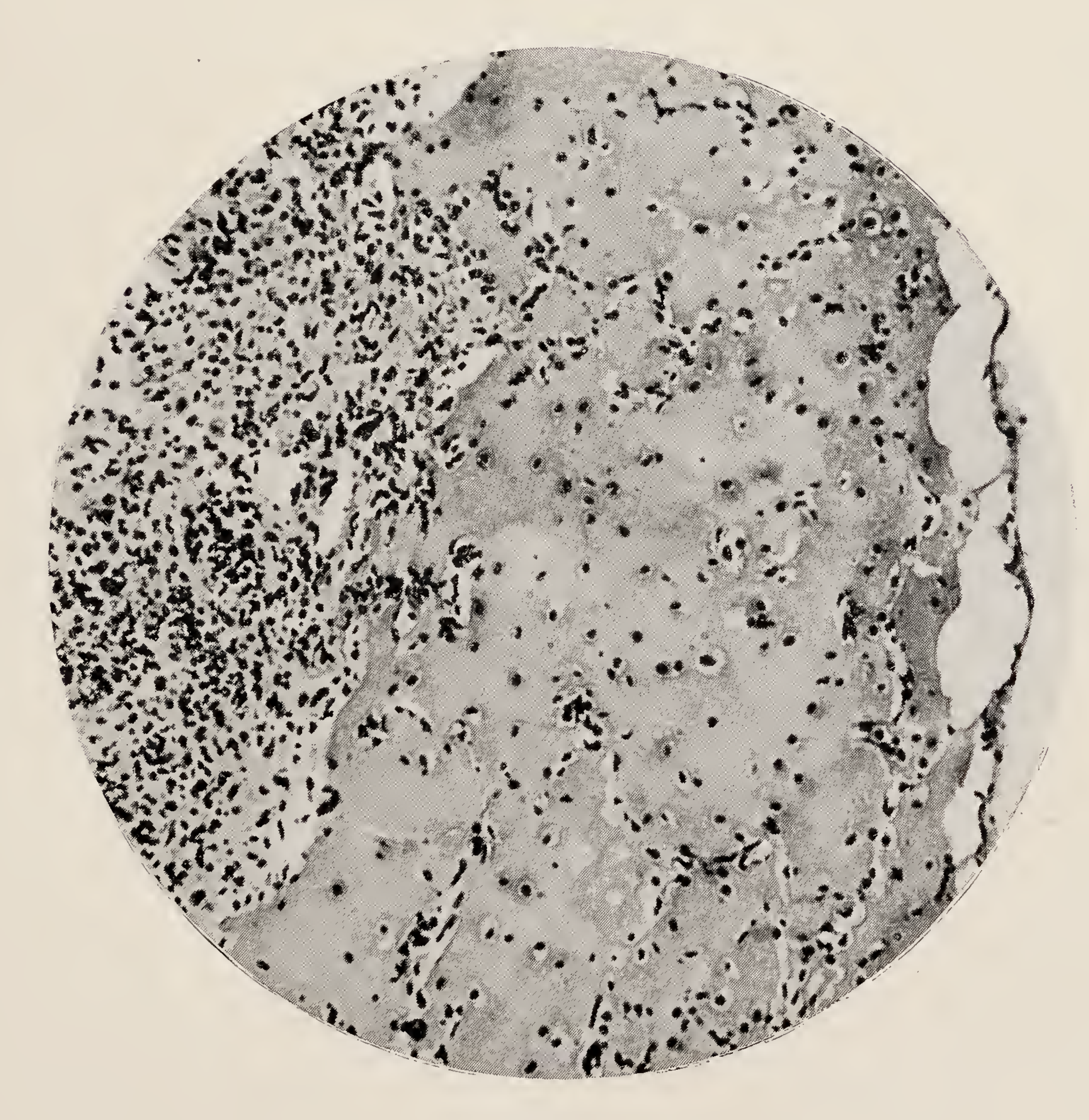


Fig. 4

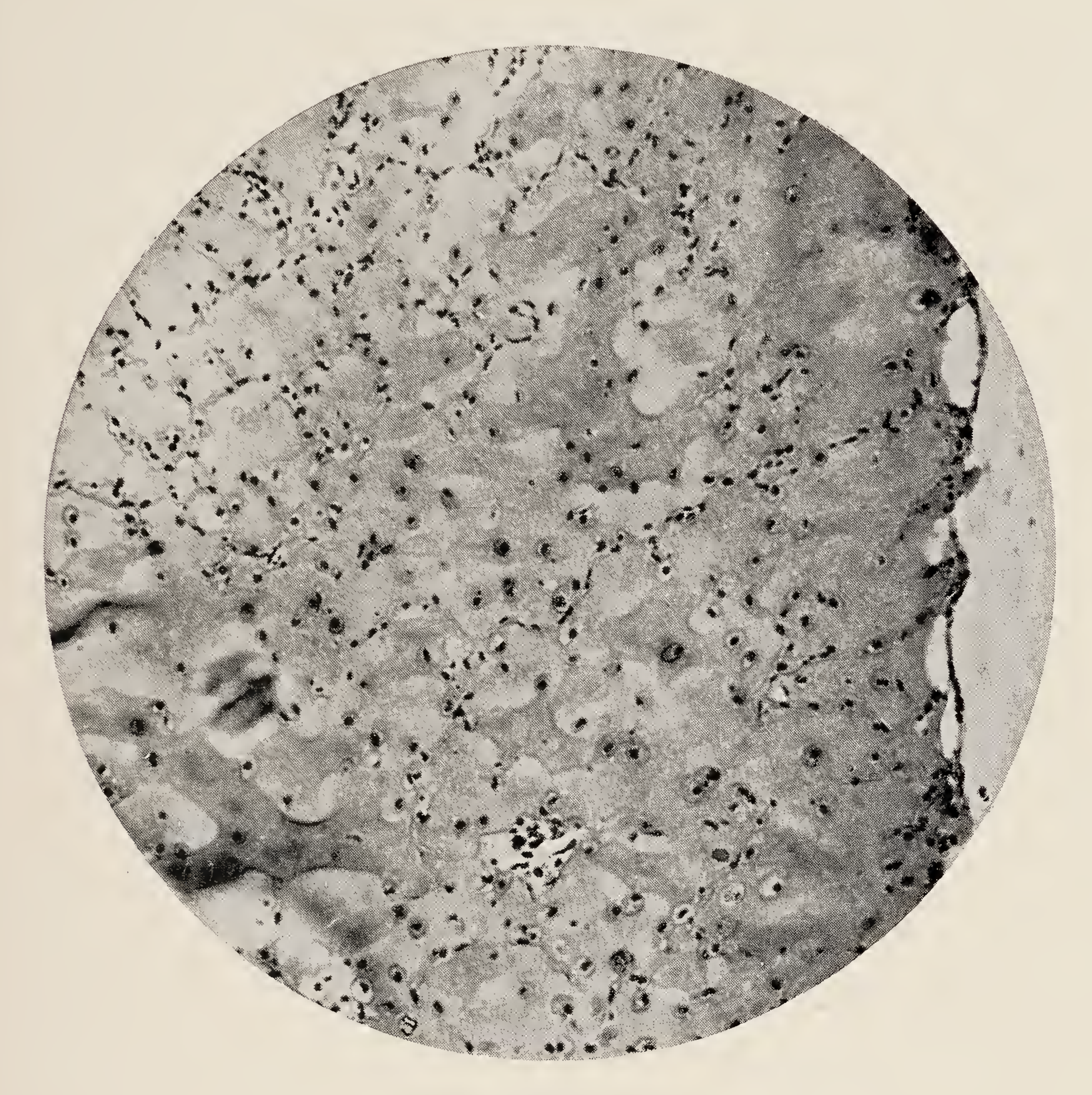


Fig. 5

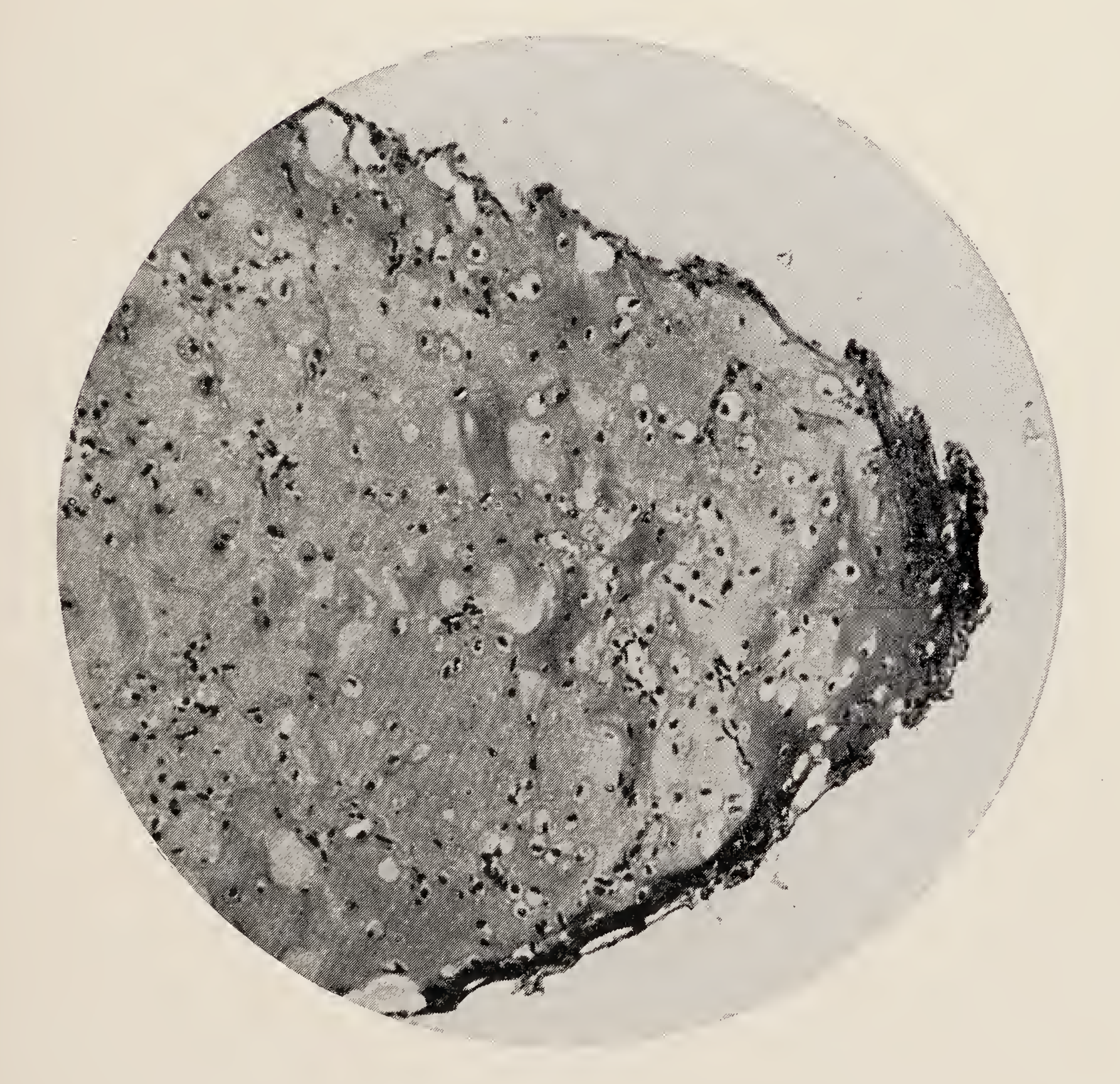


Fig. 6

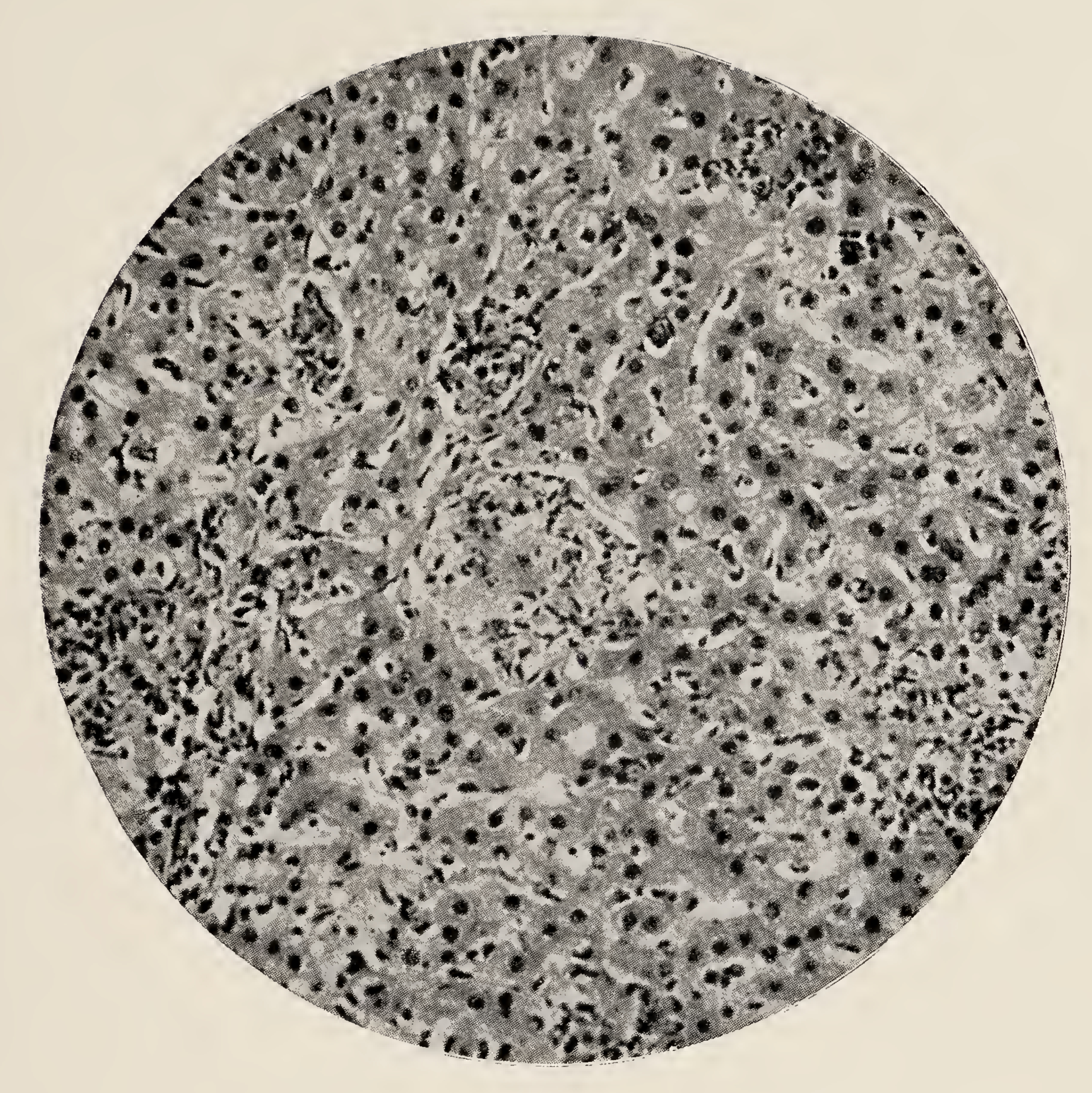


Fig. 7

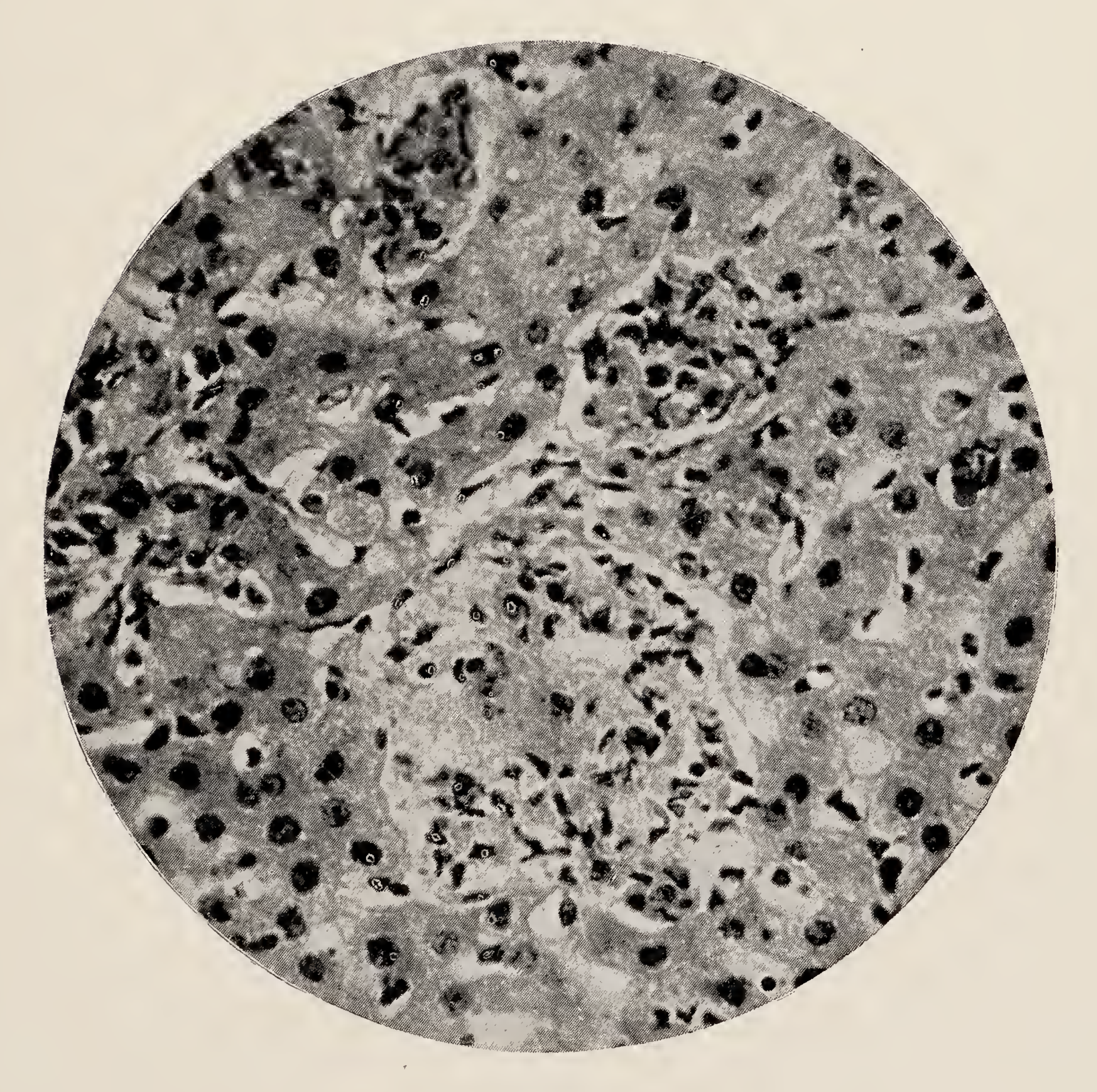


Fig. 8

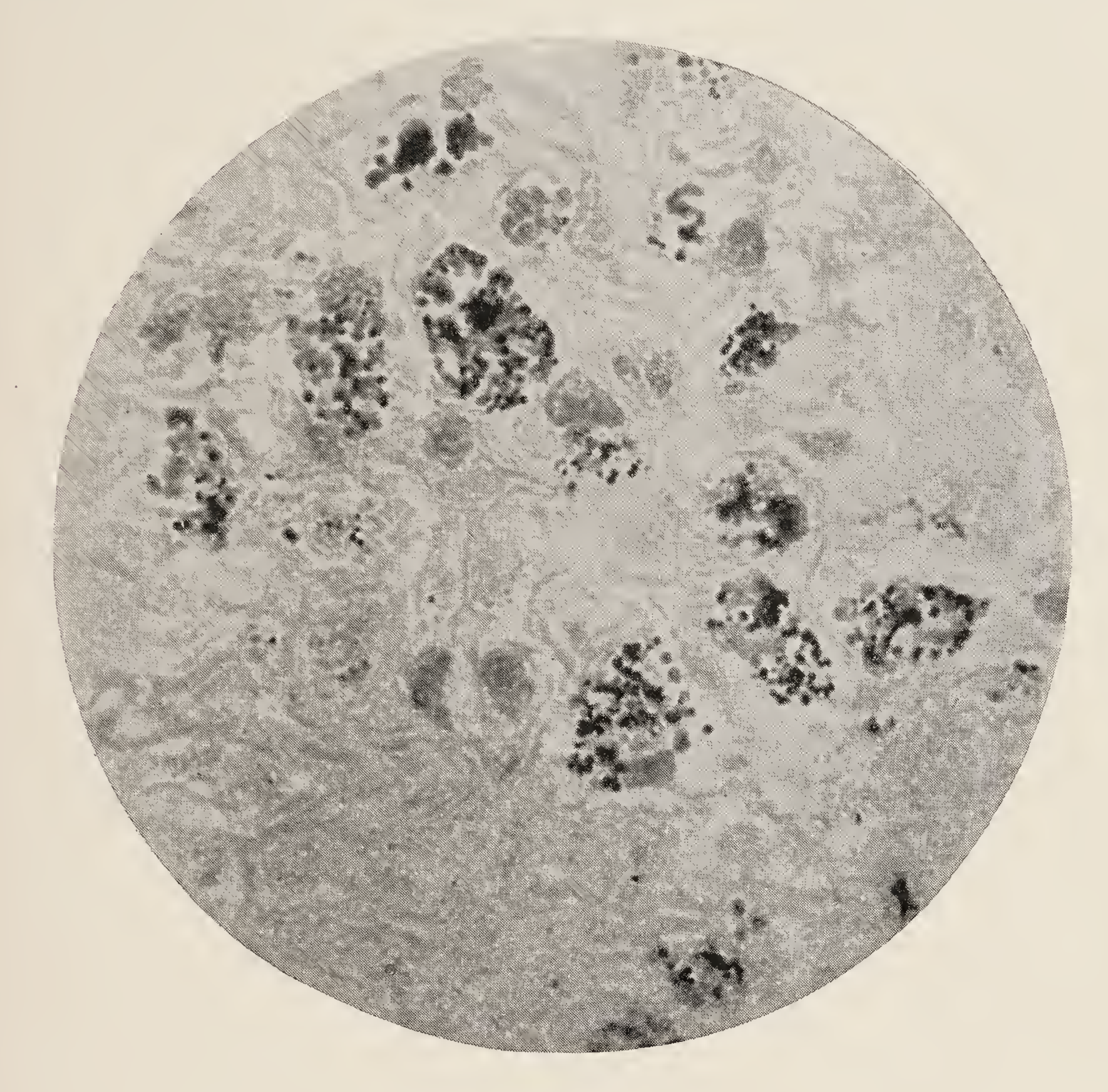


Fig. 9

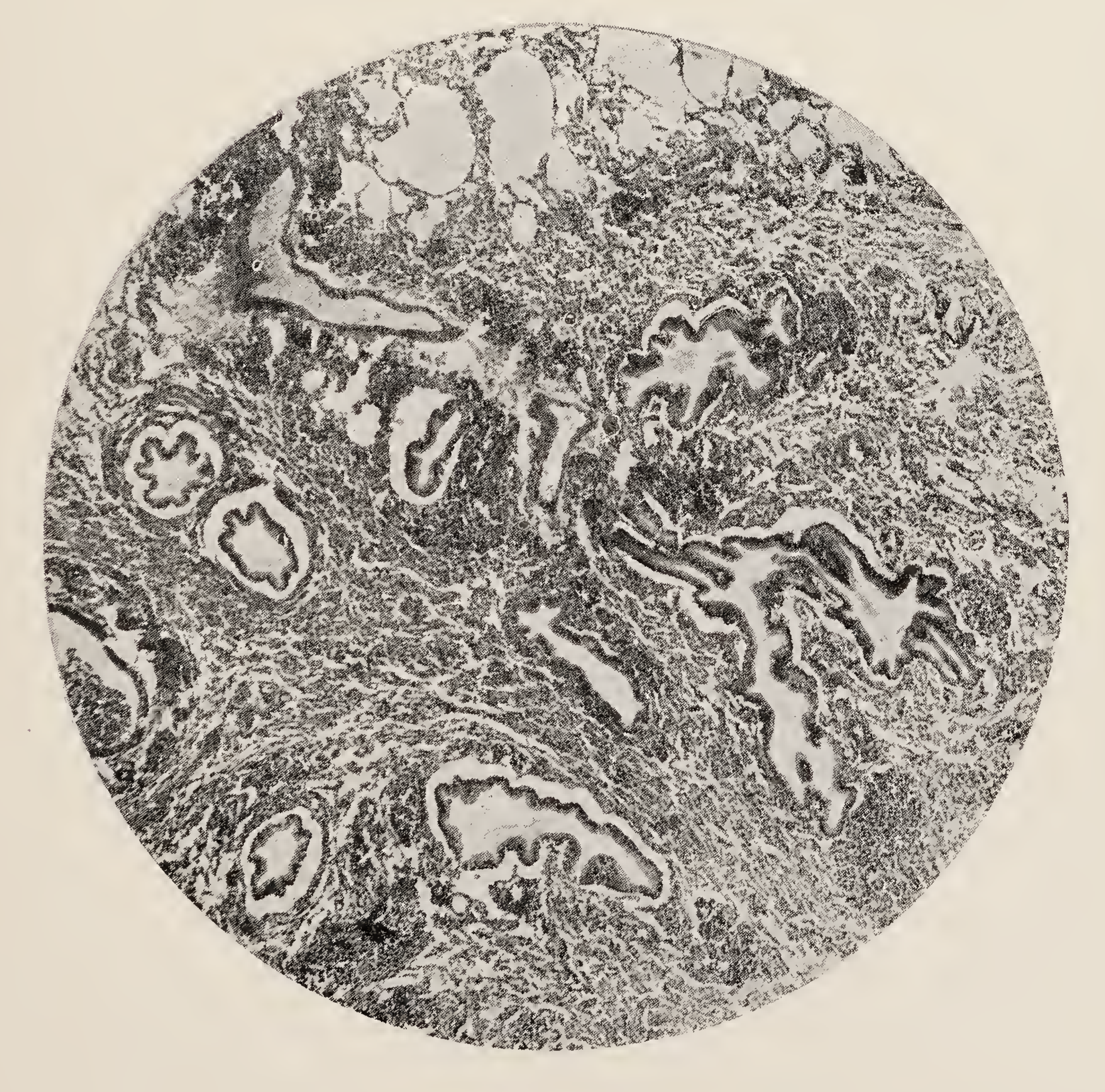


Fig. 10

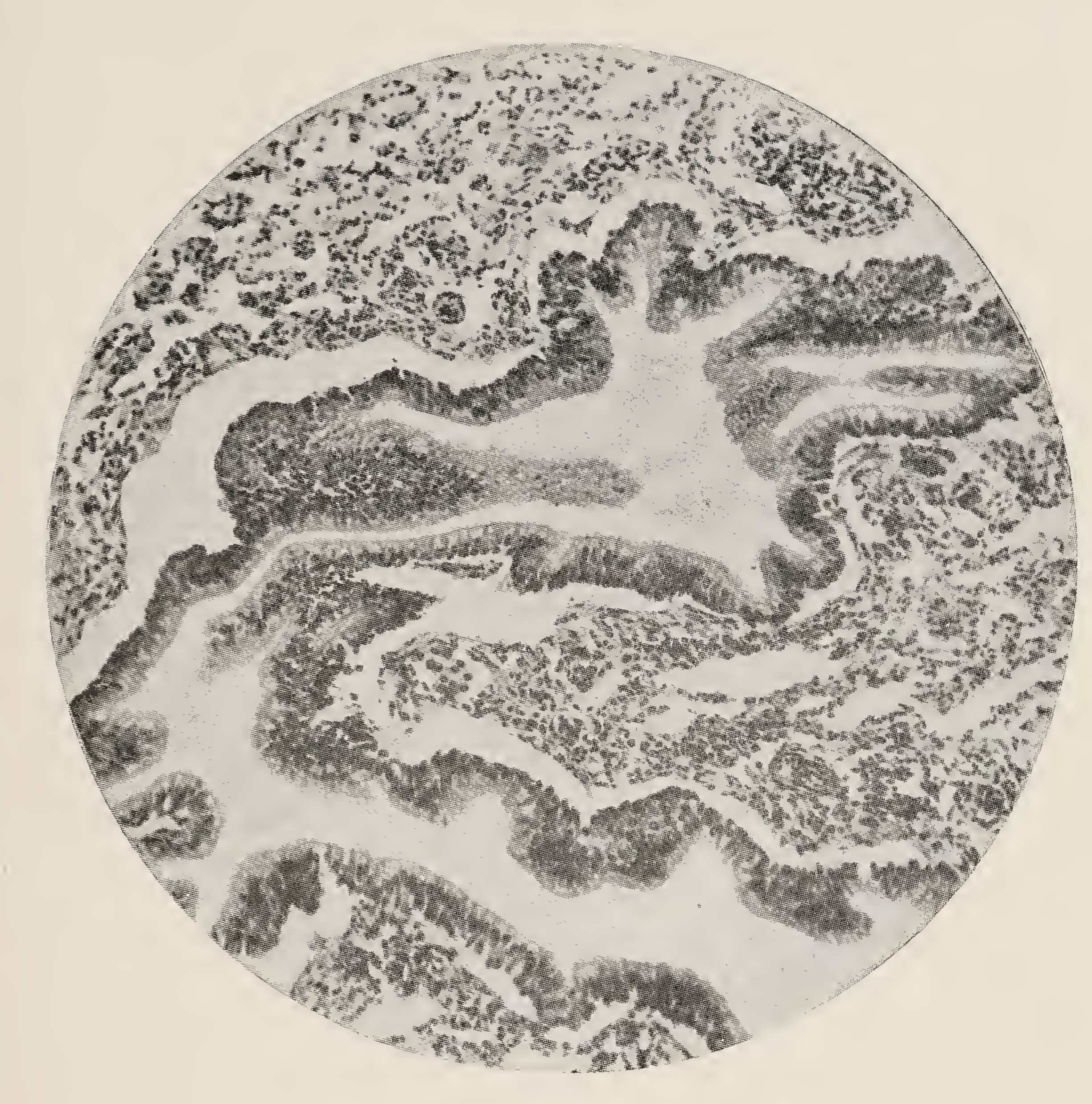


Fig. 11

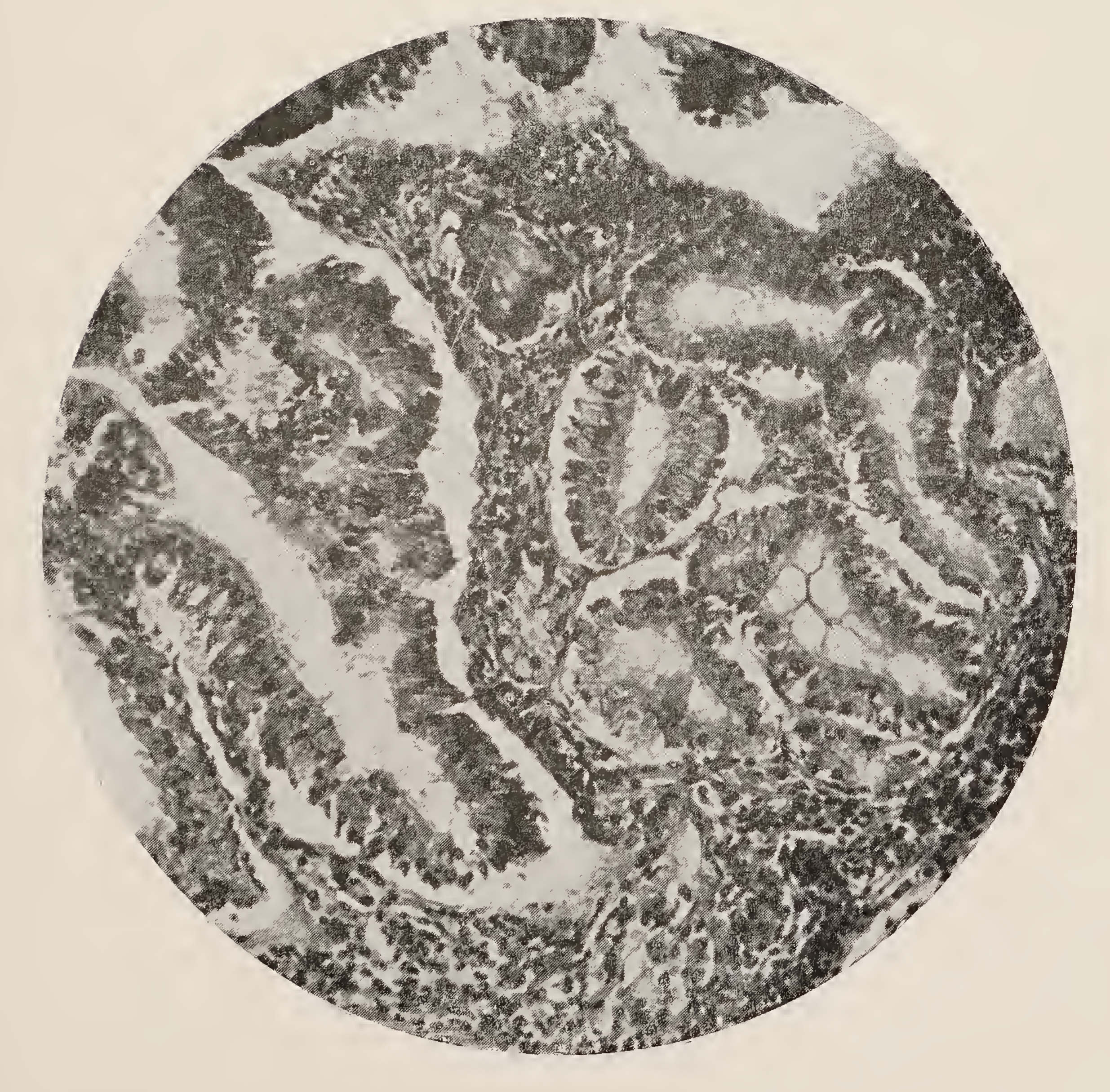


Fig. 12

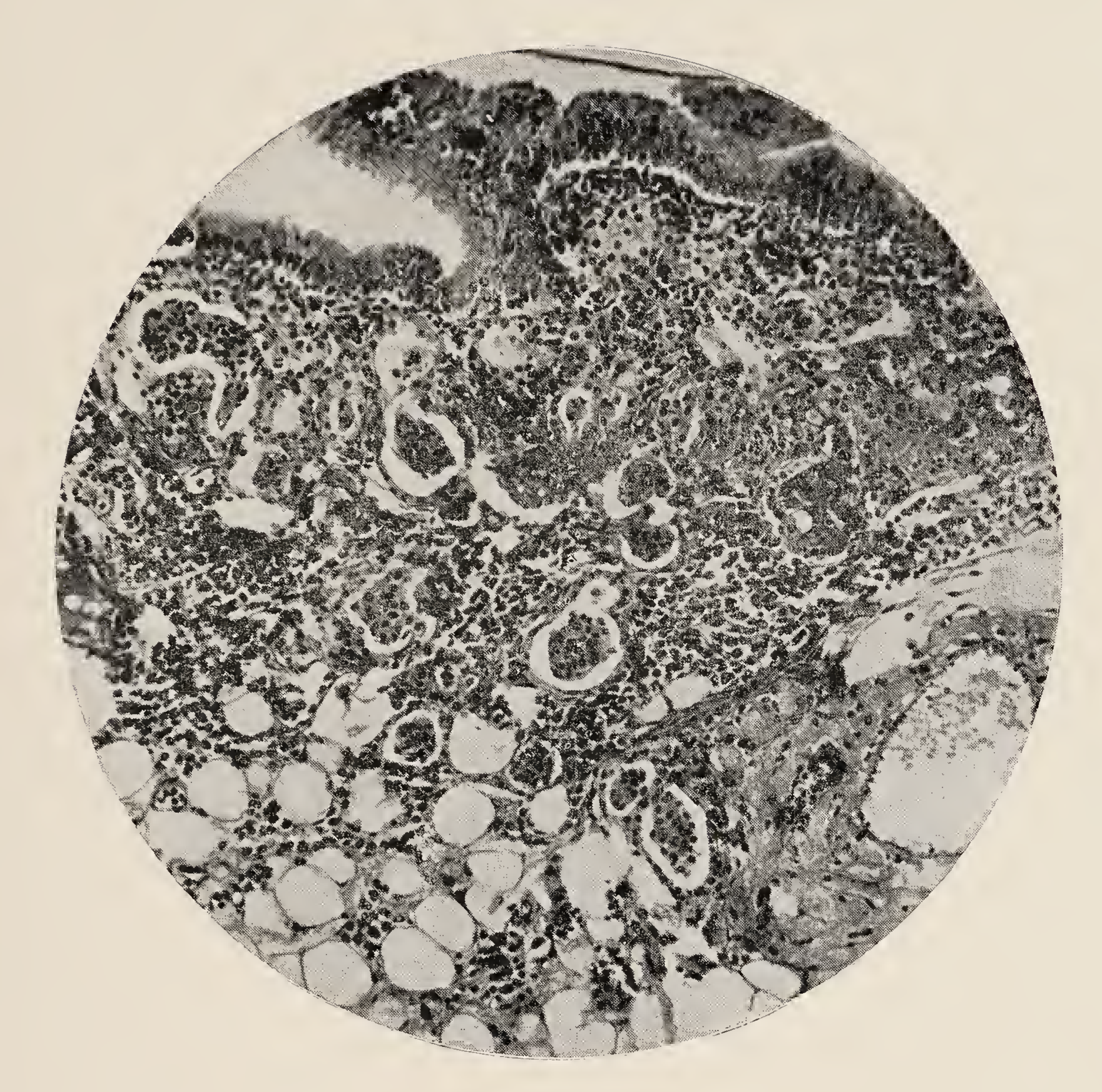


Fig. 13

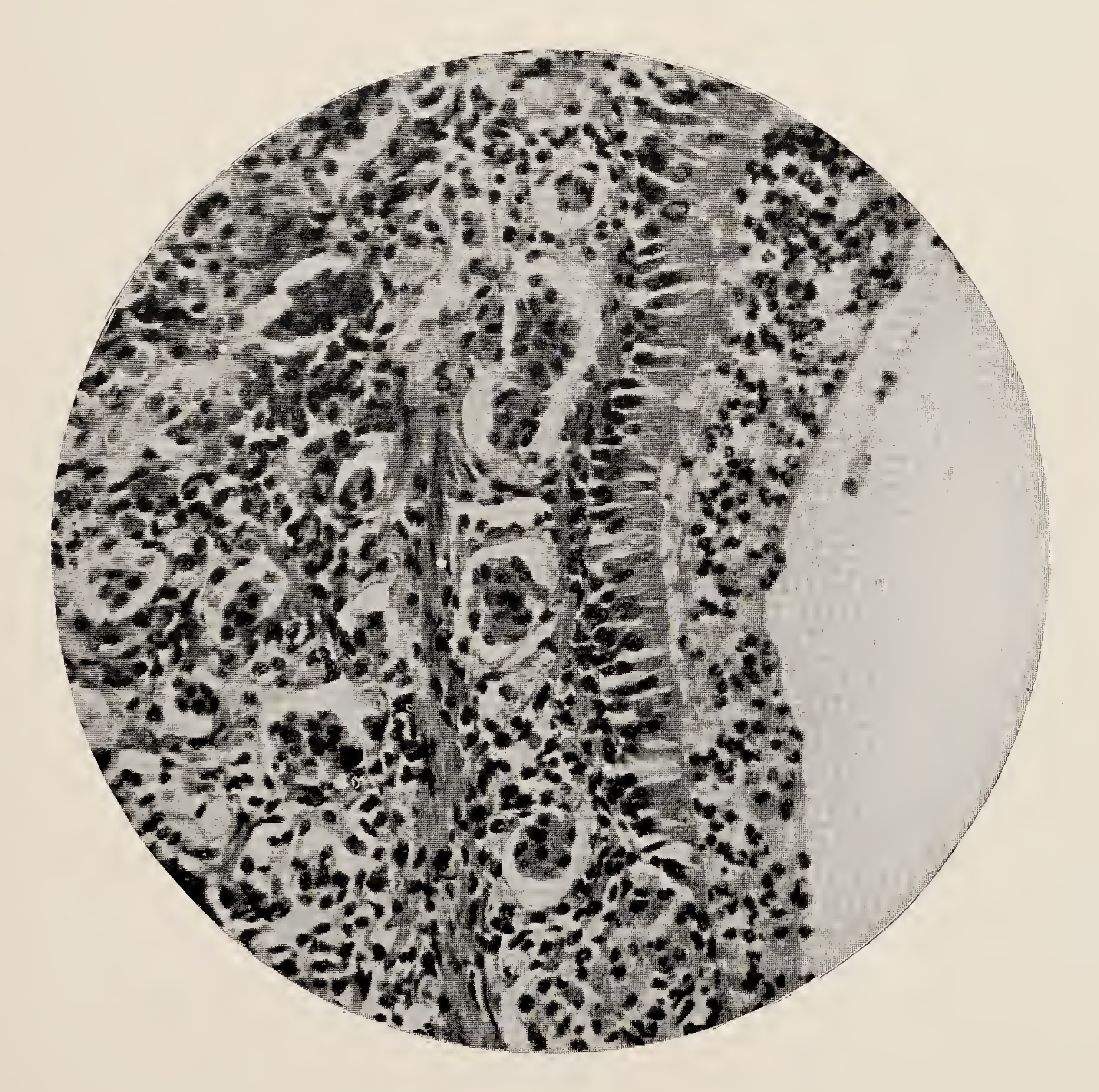


Fig. 14



Fig. 15



Fig. 16